

**UNIVERSITE KASDI MERBAH, OUARGLA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES BIOLOGIQUES**



**Mémoire de Fin d'Etudes En vue de l'obtention du diplôme de**

# **Master**

**Domaine** : Sciences de la nature et de la vie

**Filière** : Biologie

**Spécialité** : qualité des produits et sécurité alimentaires

**Présenté par** :

- **ACHCHI AmiraNour El Imene.**
- **BENETOUATI Radja Inssaf.**

## **Thème**

# **Essai de production de fromage à partir d'un lait de vache**

**Devant le jury :**

- **Meme. BEN AISSA Atika M.C.A Présidente UKM Ouargla**
- **Mr. SAADI Sid Ahmed M.A.B Examineur UKM Ouargla**
- **Mr .BOURICHA M'hamed M.A.A Encadreur UKM Ouargla**

**Année universitaire : 2018/2019**

# *Remerciements*

*Tout d'abord, nous tenons à remercier vivement notre Dieu grâce à ces dons, et pour avoir la capacité d'élaborer ce travail*

*Il fut d'une aide précieuse les moments les plus délicats.*

*Nous adressons nos remerciements à nos promoteurs.*

*Mr. BOURICHA M'hamed, qui nous a beaucoup aidées à travers ses conseils et ses multiples observations.*

*Nous remercions également Madame BEN AISSA Atika d'avoir acceptée la présidence du jury de notre travail, c'est également un grand honneur pour nous d'être jugé par vous.*

*Nous tenons à remercier Monsieur SAADI Sid Ahmed d'avoir acceptée d'examiner notre mémoire.*

*Nous remercions aussi l'ensemble du personnel travaillant au laboratoire du département de Biologie. Nos remerciements vont également à nos enseignants qui nous ont accompagnés pendant notre cursus universitaire.*

*Nous tenons à remercier tous le personnel de l'Université de Kasdi Merbah-Ouargla de nous avoir bien accompagné dans la réalisation de ce projet.*

*Merci infiniment Pour les efforts fournis.*

## *Dédicaces*

*À la personne la plus chère à mon cœur : ma mère « Yamina »  
qui a attendu avec patience le fruit de sa bonne éducation et son  
dévouement pour ma réussite*

*À mon adorable père « Ahmed » qui a supporté  
vaillamment pas à pas toutes les périodes de ma vie.*

*Si je suis arrivée à ce stade aujourd'hui, c'est grâce à vous .*

*À mes très chères sœurs « Wafa » « Mouna » et  
« Merieme »*

*À mes chers frères « Abd Erahman » « Chouaib »  
« Oussama » et « Amine »*

*À tous la famille « ACHCH ».*

*À tous mes amies sans exception.*

*Rabi yahfadkom.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à Allah le Tout Puissant, l' Omniscient et l' Omnipotent...*

*A mes chers parents, ma mère Saida et mon père Mohammed . Merci pour les valeurs nobles , l' éducation et le soutien permanent venu de moi.*

*A mon grand père Abd El Razèq, le code des principes et des valeurs de fierté et de l'identité.*

*A mon frère Ramz eddine , mes sœurs Raouia et Rayane.*

*A tous mes amis sans exception.*

*A mes grandes familles BENEJTOUATI et  
LAKHADARI.*

*A tous ceux qui m'ont appris une lettre...*

*RADJA*

## Liste des abréviations :

$A_w$  : Activité d'eau

AFFNOR : 'Association française de normalisation est l'organisation française

BM : bleu de bromotymol

CT : Coliformes totaux.

CF: Coliformes fécaux.

°D : Dornic (acidité)

EST : Extrait sec totale

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations.

FMAT : Flore mésophile aérobie total.

Ln : Leuconostoc.

NaOH : Hydroxyde de sodium

OMS : Organisation mondiale de la santé.

Red/Ox: Oxydoréducteur.

*S* : *Staphylococcus aureus*

*ST*: *Streptococcus fecalis*

UFC: Unité formante de colonie

## Liste des figures :

<b>N°</b>	<b>Titre de figure</b>	<b>page</b>
<b>01</b>	Protocole d'analyse microbiologique du lait cru et le fromage frais.	21
<b>02</b>	Détermination de pH du lait	28
<b>03</b>	Détermination de l'acidité du lait (D°)	28
<b>04</b>	Détermination de l'extrait sec totale du lait (%)	29
<b>05</b>	Détermination du pH du fromage frais	33
<b>06</b>	Détermination de l'acidité du fromage frais	33
<b>07</b>	Détermination de l'extrait sec totale du fromage frais	34

## Liste des tableaux

<b>N°</b>	<b>TITRE</b>	<b>PAGE</b>
<b>I</b>	Composition globale du lait de vache	<b>05</b>
<b>II</b>	Les caractéristiques physico-chimiques du lait de vache	<b>06</b>
<b>III</b>	Les grandes familles de fromage	<b>10</b>
<b>IV</b>	Compositions moyens d un fromage	<b>11</b>
<b>V</b>	Dénombrement des flores microbiennes du lait cru	<b>30</b>
<b>VI</b>	Dénombrement des flores microbiennes du fromage frais	<b>35</b>

# Sommaire

---



<b>Remerciements</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Listes des figures</b>	

---

## **Table des matières**

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Partie 01 :</b>	
<b>Chapitre I: Synthèse bibliographique</b>	
<b>I- Généralité sur le lait</b>	
<b>I - 1 - Différents types du lait</b> .....	<b>03</b>
<b>I - 2 - Composition du lait</b> .....	<b>03</b>
<b>I - 3 - Caractéristiques organoleptiques</b> .....	<b>05</b>
<b>I - 4 - Caractéristiques physiques et chimiques</b> .....	<b>05</b>
<b>I - 5 - Flore originale du lait</b> .....	<b>06</b>
<b>I - 6 - Flore de contamination</b> .....	<b>07</b>
<b>I - 7 - Flore d'altération</b> .....	<b>07</b>
<b>I - 8 - Flore pathogène</b> .....	<b>07</b>
<b>II - Généralité sur le fromage</b>	
<b>II-1- Définition</b> .....	<b>07</b>
<b>II - 2 -Fromage frais</b> .....	<b>07</b>
<b>II - 3 -Procédés de fabrication du fromage frais</b> .....	<b>08</b>
<b>II - 4 -Type des fromages</b> .....	<b>10</b>
<b>II - 5 -Types de fromage frais</b> .....	<b>11</b>
<b>II - 6 -Qualité nutritionnelle</b> .....	<b>11</b>
<b>III - Microorganismes se trouvent dans le fromage</b> .....	<b>12</b>
<b>III - 1 - Streptocoques lactiques</b> .....	<b>12</b>
<b>III - 2 - Lactocoques</b> .....	<b>12</b>
<b>III - 3 - Lactobacilles</b> .....	<b>12</b>
<b>III - 4 - Pédiocoques</b> .....	<b>13</b>
<b>VI - 5 - Enterocoques</b> .....	<b>13</b>
<b>VI - 6 - Leuconostoc</b> .....	<b>13</b>
<b>III- 7 -Flore apportée</b> .....	<b>14</b>
<b>III- 8 -Flore de contamination</b> .....	<b>14</b>
<b>V- Normes microbiologiques</b> .....	<b>15</b>
<b>Partie 02 :</b>	
<b>Chapitre II: Matériels et méthodes</b>	
<b>I- Echantillonnage et prélèvement</b>	
<b>I-1 - Lieu d'étude</b> .....	<b>17</b>
<b>I-2 - Souche utilisée</b> .....	<b>17</b>
<b>I-3 - Traitement du lait</b> .....	<b>17</b>
<b>II- Analyse du lait</b> .....	<b>17</b>
<b>II-1- Analyse physicochimique du lait cru et stérile</b>	
<b>II -2- de pH</b> .....	<b>18</b>
<b>II-3- Détermination de l'acidité titrable</b> .....	<b>18</b>
<b>II-4- Détermination de l'extrait sec total</b> .....	<b>19</b>
<b>III - Analyse microbiologique du lait cru</b>	

III-1- Test de réductase.....	20
IV- Production de fromage frais .....	23
VI-1 Coagulation .....	23
VI- Egouttage.....	23
VI-3 Salage et moulage .....	23
IV - Analyse physicochimique et microbiologique de fromage frais .....	24

### Chapitre III: Résultats et discussion :

#### I- Analyse du lait

I-1- Analyse physicochimique du lait cru et stérile .....	28
I-2- Analyse microbiologique du lait cru.....	30
I-2-1-Test de réductase .....	30
I-2-2- Dénombrement des flores microbiennes du lait cru.....	30
II- Analyse du fromage frais.....	32
II-1 Analyse organoleptique .....	32
II-1-1-Texture.....	33
II-1-2-Goût.....	33
II-1-3-Odeur.....	33
II-2- Analyse physicochimique du fromage frais .....	33
II-3- Analyse microbiologique du fromage frais.....	35
II-3-1- Dénombrement des flores du lait cru.....	35
II-3-2- Dénombrement de la flore mésophile total.....	36
II-3-3- Recherche des coliformes totaux .....	36
II-3-4- Recherche des coliformes fécaux .....	37
II-3-5- Recherche de staphylococcus aureus .....	38
II-3-6- Dénombrement de la flore lactique.....	39
II-3-7- Recherche des levures et moisissures .....	40
II-3-8- Recherche des streptocoques.....	40
II-3-9- Recherche des germes sulfito-réducteurs .....	41
Discussion général .....	41
Conclusion .....	46

#### Références bibliographiques

#### Annexe

#### Résumé

# Introduction

Selon FAO, La production mondiale de lait a été de 818 milliards de litres en 2015, l'équivalent de 26 t de lait produit chaque seconde.

L'Algérie est le premier consommateur de lait au Maghreb, avec près de 3 milliards de litres par année Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens (**Hamiroune et al., 2014**)

Le lait et les produits laitiers constituent un groupe des aliments qui ont un rôle dans la croissance et l'entretien du corps humain, néanmoins, le lait est facilement périssable et constitue un milieu propice aux proliférations microbiennes, c'est pourquoi on procède à sa transformation en divers produits par divers procédés afin de le conserver et prolonger sa durée de vie pendant plusieurs jours, plusieurs semaines ou encore plusieurs mois (**Tozanli, 2007**). Pour cela, une quantité est destinée par transformation à la fabrication de différents types de ces dérivées, parmi lesquelles le fromage frais (**Mehnoune et Ferhoul, 2015**).

Les fromages frais ont une longue histoire et ils sont traditionnellement fabriqués par des processus anciens à partir du lait de vache, de chèvre, de brebis ou de mélanges. Plus de 10 fromage traditionnels sont produits dans tout le territoire algérien mais uniquement le jben et la klila sont très connus (**Hallel, 2001**)

Les fromages frais sont des fromages à égouttage lent, n'ayant subi que la fermentation lactique obtenue avec des laits propres à la consommation humaine (**Mehnoune et Ferhoul, 2015**).

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans les procédés de fermentation permettant la conservation de produits alimentaires. Ces denrées bénéficient ainsi d'une meilleure conservation, mais elles acquièrent aussi certains de leurs propriétés, comme le goût et la texture (**Corrieu et Luquet, 2008**) Par cette capacité, l'utilisation des bactéries lactiques permet de satisfaire les besoins de point de vue sanitaire en industrie alimentaire, et permet d'inhiber la prolifération des microorganismes pathogènes et ainsi d'assurer une bonne conservation des aliments (**Paul Ross et al., 2002**).

La qualité microbiologique de différents types de fromages est liée à leurs procédés de fabrication et leurs caractéristiques physico-chimiques des quels relèvent la persistance et la survie des microorganismes s'y trouvant. Le pH, la température et l'activité de l'eau ( $A_w$ ), pour ne citer que ceux la, ont des effets significatifs sur la viabilité et l'activité de la flore microbienne de tout produit alimentaire (**Lenovich, 1987**).

Le fromage frais fournit un intérêt nutritionnelle lié aux ses caractéristiques physicochimiques et organoleptiques proprement réservés par ce type de fromage.

L'enjeu de l'utilisation des bactéries lactiques dans ce contexte a permet d'avoir un report de conservation et donc une meilleur qualité hygiénique et nutritionnelle. (**Mounkala, 2002**)

L'objectif de notre travail est :

- De produire un fromage frais à partir du lait de vache cru et autre à partir du lait de vache stérile et donc d'améliorer la qualité hygiénique et organoleptique d'un fromage frais produit à partir du lait de vache.
- La mise en évidence de l'influence de la microflore initiale du lait et donc la qualité du fromage frais produit.

Ce travail comprend trois parties: la première partie est une synthèse bibliographique comprend des notions générales sur le lait et le fromage .La deuxième partie, consacrée au travail expérimentale, rapporte les matériels et les méthodes utilisés et en dernière parties, les résultats des analyses qui seront par la suite discutés.

# **C**hapitre I :

## **Synthèse Bibliographique**

### **I-Généralité sur le lait :**

Le lait a été défini en **1999 selon codex Alimentarius** comme étant :

« La sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme les liquides ou un traitement ultérieurs »

Le lait est une sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans y ajouter, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur (**FAO, 1995**).

### **I – 1- Différents types du lait :**

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de «lait de consommation» qui se distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle, organoleptique et leur durée de conservation : (**GEM RCN, 2009**)

#### **I - I - 1 En fonction du taux de matière grasse :**

- **Le lait entier** : est un lait traité thermiquement qui, en ce qui concerne sa teneur en matière grasse, répond à l'une des formules suivantes :
- **Lait entier normalisé** : un lait dont la teneur en matière grasse s'élève à 3,50 % m/m au minimum.

Toutefois, les États membres peuvent prévoir une catégorie supplémentaire de lait entier dont la teneur en matière grasse est supérieure ou égale à 4,00 % (m/m).

- **Lait entier non normalisé** : un lait dont la teneur en matière grasse n'a pas été modifiée depuis le stade de la traite, ni par adjonction ou prélèvement de matières grasses du lait, ni par mélange avec du lait dont la teneur naturelle en matière grasse a été modifiée. Toutefois, la teneur en matière grasse ne peut être inférieure à 3,50 % (m/m).
- **Le lait demi-écrémé** est un lait traité thermiquement dont la teneur en matière grasse a été ramenée à un taux qui s'élève à 1,50 % (m/m) au minimum et à 1,80 % (m/m) au maximum.
- **Le lait écrémé** est un lait traité thermiquement dont la teneur en matière grasse ne peut excéder 0,50 % (m/m).

## I - 1 - 2 En fonction du traitement thermique appliqué :

### ➤ **Le lait cru destiné à la consommation humaine directe (non transformé):**

Ce lait n'a pas subi aucun traitement autre que la réfrigération mécanique immédiate après la traite à la ferme.

### ➤ **Le lait pasteurisé :**

La dénomination « lait pasteurisé » est réservée au lait :

- **Obtenu par un traitement mettant en œuvre une température élevée** pendant un court laps de temps (au moins 72°C pendant quinze secondes ou toute combinaison équivalente) ou par un procédé de pasteurisation utilisant des combinaisons différentes de temps et de température pour obtenir un effet équivalent.
- **Immédiatement refroidi** après pasteurisation pour être ramené, dans les meilleurs délais, à une température ne dépassant pas 6°C
- **Présentant une réaction négative au test phosphatase**

### ➤ **Le lait frais micro filtré :**

La dénomination « lait frais micro filtré » est réservée au lait obtenu par un traitement de microfiltration appliqué à du lait cru, additionné ensuite éventuellement de crème traitée thermiquement ou de crème ayant subi tout traitement d'effet équivalent. Ce lait présente une réaction positive au test de la phosphatase. Il est conditionné et refroidi immédiatement après le traitement pour être ramené dans les meilleurs délais à une température ne dépassant pas 6°C. Le lait frais micro filtré se conserve réfrigéré.

### ➤ **Le lait stérilisé**

La dénomination « lait stérilisé » est réservée au lait préalablement conditionné dans un emballage hermétique, puis chauffé pendant 15 à 20 minutes à une température de 115-120°C afin de détruire tous les germes susceptibles de s'y développer. Le lait est ensuite rapidement refroidi. Il se conserve à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert.

### ➤ **Le lait stérilisé UHT**

Le procédé dit d'ultra haute température est également un procédé de longue conservation qui permet d'écourter le temps de chauffage : les qualités gustatives du lait sont mieux préservées qu'avec la stérilisation simple. Il s'agit de porter rapidement le lait à la température de 135°C minimum pendant 2 à 4 secondes, puis de le conditionner dans une ambiance stérile.

Le lait UHT peut être entier, demi-écrémé ou écrémé. On le trouve dans le commerce sous le nom « lait stérilisé UHT ». Il se conserve à température ambiante, tant que l'emballage n'a pas été ouvert.



## I-2 Composition du lait :

Le lait de vache est un lait crassieux. Sa composition en générale varie en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite (**Roudaut et Lefranc, 2005**).

**Tableau I:** Composition globale du lait de vache (**Allais, 1984 ; Amiot *et al.*, 2002**)

Constituants	Lait de vache
Eau	90-91
Extrait total	12,5-13,5
Glucides	3-3,5
Matière grasse	3-3,5
Matière protéique	3-3,5
Caséine	0,7-0,8
Protéines solubles	0,4-0,5
Matière minérale	0,7-0,8
Lactose	4-5

## I-3 Caractéristiques organoleptiques :

La qualité organoleptique (couleur, odeur et texture) d'un produit se dégrade au fil du temps. La durée de stockage, la température et leur action combinée affectent considérablement les attributs sensoriels totaux.

Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques particulières qui concernent la couleur, l'odeur, la saveur, la viscosité etc...(Guirraud, 2003)

## I-4 Caractéristiques physiques et chimiques :

On retrouve principalement dans le lait de vache (**tableau II**)

**Tableau II: Les caractéristiques physico-chimiques du lait: (Alais, 1984).**

Caractéristiques physicochimiques (g/l)	Valeurs
pH (20) 6,6 – 6,8	6,6 – 6,8
Densité 1,030 – 1,033	Densité 1,030 – 1,033
Température de congélation (°C)	Température de congélation (°C) 0,53
Extrait sec total	127
Taux de matière grasse	34
Teneur en substances azotées non protéiques	1,5
Teneur en caséines	27
Teneur en albumines et globulines	5,5
Teneur en lactose	49
Teneur en sel	9
Vitamines, enzymes et gaz dissous	Traces

### **I-5 Flore originale du lait :**

Le lait destiné à la fromagerie doit contenir d'une manière générale une flore lactique dominante (**Eck et Gillis, 2003**)

Le lait contient peut de microorganismes lorsqu'il est prélevé aseptiquement à partir d'un animal sain (moins de 3000 germes par/ml) Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation. (**guirraud, 2003**)

### **I-6- Flore de contamination :**

D'autres micro organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issue d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire.

C'est l'ensemble des microorganismes contaminant du lait de la récolte jusqu'à la consommation.

Elle peut se composer d'une flore d'altération causera des défauts sensorielles ou qui réduira la durée de conservation des produits et d'une flore pathogène dangereuse de point de vue sanitaire (**Essalhi, 2002**)

### **I-7-Flore d'altération :**

Causera des défauts sensorielles de goût, d'arôme, d'apparence ou de texture et réduira la vie des produits laitiers. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération ;les coliformes et certains levures et moisissures (**Essalhi, 2002**)

### **I-8- Flore pathogène :**

La contamination du lait par les germes pathogènes peut être d'origine endogène de ce fait alors elle est suite d'une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, il s'agit d'un contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'homme (**Brsabois et al ,1997**)

Parmi ces germes : Salmonelles, Listeria, Staphylocoques, les clostridium sulfitoréducteurs...

## **II- Généralité sur le fromage :**

### **II-1 Définition :**

Le fromage, selon la norme (Codex STAN 283-1978), est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/ caséines ne dépasse pas celui du lait. On l'obtient par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ; ou alors par emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant es caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques correspondant à la définition précédente (**Eck, 1997**)

Le fromage, est de la caséine plus ou moins débarrassée des autres constituants du lait et plus ou moins transformée. La norme FAO n°A6 (1978) définit le fromage par :

« Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi-solide dans lequel le rapport protéine de lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait, obtenu :

- par coagulation du lait : lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème de lactosérum , ou babeurre, seul ou en en combinaison, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par l'égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation.
- par l'emploi de technique de fabrication entraînant la coagulation du lait et ou de matière provenant du lait de façon à obtenir un produit ayant des caractéristiques physicochimiques et organoleptiques similaires à celles du produit défini au paragraphe ».

### **II-2 Fromage frais :**

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée, c'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide, obtenue grâce à l'action des bactéries lactiques combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure (1-5 ml/100 l de lait) et un temps d'incubation long (**Eck et Gillis, 2006**)

### **II-3 Procédé de fabrication du fromage frais :**

Actuellement, le fromage frais est produit par deux principales étapes , mènent à son caractère acide dominant, les modalités de fabrication son orientés pour obtenir une pâte fortement humide , acide, à faible cohésion : (**Eck et Gillis, 2006**)

#### **II-3-1 Coagulation :**

La coagulation est définit par le passage de l'état liquide à l'état solide du lait par formation d'un gel. Elle se caractérise par la déstabilisation de la forme micellaire originelle des caséines (**Gouedranche et al., 2001**)

### II-3-2 Egouttage :

L'égouttage se traduit macroscopiquement par une élimination du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement du gel, il est amorcé dans des moules qui confèrent au fromage sa forme et il résulte de deux phénomènes physiques différents :

- Un phénomène actif, la synérèse, qui est due à la contraction du gel.
- Un phénomène passif, résultant de l'aptitude du coagulum à laisser s'écouler le lactosérum occlus.

Le salage est une étape facultative de la production du fromage qui succède à l'égouttage, elle est réalisée selon le goût du fromage pour inhiber le développement microbien et accentuer la saveur (**Benkerroum et Tamime, 2004**)

II-4 Types des fromages : (la lettre à table, 2013)

Tableau III : les grandes familles de fromage

Famille	Exemple	Caractères technologique
<b>Fromage frais</b>	Faisselles, Fromages blancs, Petits-Suisses...	<ul style="list-style-type: none"> <li>-fromage non affiné.</li> <li>- fermentation principalement lactique.</li> <li>- flore vivante au moment de la vente au consommateur</li> <li>-Fromages très humides : 70 à 80% d'eau.</li> <li>-Durée de conservation courte.</li> <li>-Diverses présentations : natures, salés, avec des épices ou des herbes aromatiques, sucrés, aromatisés...</li> </ul>
<b>Fromage à pâte molle et à croûte fleurie</b>	Brie de Meaux, Brie de Melun, Camembert, Coulommiers, Carré de l'Est, Neufchâtel.	<ul style="list-style-type: none"> <li>-coagulation mixte</li> <li>-Affinage prolongé</li> </ul>
<b>Fromage à pâte molle et croûte à lavée</b>	Epoisses, Langres, Livarot, Maroilles, Munster, Pont-l'Evêque, Reblochon...	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Coagulation mixte</li> <li>-Lavage et brossage du surface pendant l'affinage</li> </ul>
<b>Fromage à pâte persillée</b>	Bleu d'Auvergne, Bleu de Gex, Bleu des Causses, Fourme d'Ambert, Roquefort...	<p>Fromages affinés, à moisissures interne.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- La couleur de bleu à vert qui zèbre la pâte lui confère le qualificatif de persillées.</li> </ul>
<b>Fromage à pâte pressée non cuite</b>	Cantal, Edam, Gouda, Laguiole, Mimolette, Morbier, Ossau-Iraty, Pyrénées, Raclette, Saint Nectaire, Saint Paulin, Salers...	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Coagulation mixte</li> <li>- caillé coupé en morceaux, brassé, puis pressé pour en extraire le petit-lait.</li> <li>-Egouttage par pressage.</li> <li>-Salage en bain de saumure ou salage à sec.</li> <li>-Affinage : de 2 mois à plus d'un an.</li> </ul>
<b>Fromage à pâte pressée cuite</b>	Abondance, Beaufort, Comté, Emmental, Gruyère, Parmesan...	<ul style="list-style-type: none"> <li>-affinage à chaud</li> <li>-caillé cuite (plus de 50°C)</li> </ul>
<b>Fromage fondus</b>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ils résultent de la fonte de fromages à pâte pressée cuite ou non.</li> <li>-Ils peuvent être additionnés de lait, crème, aromates...</li> </ul>

Le schéma général de la production des divers types de fromage est indiqué dans l'annexe 01

## II-5- Types de fromage frais :

En production fermière, il existe deux types de fromage frais (**Gret, 2002**)

**II-5-1 Les fromages blancs moulés en faisselles :** (ou fromage type « campagne ») se caractérisent par une texture hétérogène en morceaux :

**II-5-2 Les fromages battus :** présentent une texture lisse et onctueuse, à extrait sec plus élevé comme les petit suisses. Ils peuvent être additionnés de sucre, de sel, de fruits, d'épices ou d'herbes aromatiques. On peut varier le taux de matière grasse de moins de 3,5 % jusqu'à 10%.

## II - 6 - Qualité nutritionnelle des fromages frais :

Les fromages frais présentent des qualités nutritionnelles importantes en tant que concentré de protéines et une teneur en calcium assez importante, quelle que soit la catégorie la teneur en glucides reste sensiblement identique (**Mahaut et al., 2000**)

**Le tableau IV :** Composition moyenne d'un fromage type « petite suisse » pour 100 g de produit frais: (**Eck et Gillis, 1997**)

Constituants		Fromage frais
Eau	%	79
Energie	(kcal)	118
Glucides	(g)	4,0
Lipides	(g)	7,5
Protéines	(g)	8,5
Calcium	(mg)	100
Phosphore	(mg)	140
Magnésium	(mg)	10
Potassium	(mg)	130
Sodium	(mg)	40
Zinc	(mg)	0,5

### III- Microorganismes des fromages :

Les différentes phases d'élaboration du fromage vont dépendre de la présence de microorganismes utiles. Ces germes vont conditionner la réussite du fromage en lui donnant ses caractéristiques de texture, de saveur, d'aspect etc.

Produire un fromage consiste à sélectionner et à favoriser de germes utiles tout en limitant la contamination par des germes indésirables et entravant leur développement (Le Jaouen, 1993)

#### III-1- Streptocoques lactiques :

Les espèces de streptocoques sont homo-fermentaires strictes, se rencontrant chez l'homme et les animaux, la plupart sont saprophytes toutefois certaines d'entre elles possèdent des caractères pathogènes (*Streptococcus pyogenes*), ce genre regroupe une bactérie d'intérêt industriel et nutritionnel *Streptococcus thermophilus* utilisée dans la fabrication du fromage (Luquet, 1986; Jamet, 2009).

#### III-2- Lactocoques :

Les lactocoques ont un métabolisme homo-fermentaire facultatif (Jamet, 2009). Le genre *Lactococcus* comporte plusieurs espèces et sous espèces, dont les plus importantes sont les espèces suivantes: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* ssp. *lactisbiovar diacetylactis*. Certains caractères biochimiques distinguent ces sous espèces et biovariants, telle que la production de diacétyl à partir du citrate, la désamination de l'arginine, la capacité à croître en présence de 4% de sel, à pH 9,2 et à une température de 40° C (Badis et al., 2004).

#### III-3- Lactobacilles:

Les lactobacilles contiennent de nombreuses espèces qui interviennent dans de nombreuses industries laitières, ils ont des exigences nutritionnelles très complexes en acides aminés, en vitamines, en acides gras, en glucides et en minéraux (Badis et al., 2005).

La subdivision de 1986 en trois groupes permet de distinguer le groupe I contenant les lactobacilles thermophiles utilisés pour l'acidification et caractérisés par un métabolisme

homo-fermentaire stricte. La flore secondaire du groupe II et III non fermentés (NSALB :

(Non Starter Acid Lactic Bacteria) croit pendant l'affinage, les espèces du groupe II sont des



hétéro-fermentaires facultatives, utilisant deux voies métaboliques (la glycolyse et voie des pentoses phosphates), celles du groupe III sont des hétéro-fermentaires strictes (pas de voie Embden-Meyerhof fonctionnelle) résistantes aux températures de cuisson et produisent du CO<sub>2</sub> (Luquet, 1986; Jamet, 2009)

### III-4-Les pédiocoques :

Les pédiocoques sont des homo-fermentaires, sous forme sphérique ne formant pas de chaînettes mais jamais isolés, avec une croissance à une température optimale de 25-40°C selon les espèces. Ce genre ne possède pas la capacité de métaboliser le lactose, toutefois un grand nombre de ces bactéries est retrouvé dans le fromage affiné, spécialement

*Pd.acidilacticiet Pd.pentacaseus*, avec une aptitude à acidifier le lait et des activités Protéolytiques importantes (Jamet, 2009).

### III-5-Les entérocoques :

Ce sont des bactéries lactiques présentes dans l'intestin humain et des animaux et dans la flore naturelle du lait cru et du fromage (> 10<sup>6</sup>UFC/g) avec un métabolisme homo-fermentaire stricte. Elles se différencient des autres coques (streptocoques et lactocoques) par leur capacité à croître à de faibles températures (10°C) et à résister aux sels (6,5% NaCl; 40% sels biliaires), et aux facteurs de l'environnement spécialement le traitement thermique (30 min à 60°C). Ce sont des opportunistes, avec la capacité de produire des bactériocines et de présenter une activité antagoniste vis-à-vis de certains agents pathogènes. Les plus connus dans le domaine fromager, associés à la fermentation, dans les fromages italiens, sont *Enterococcus faecium* et *En.faecalis*et parfois utilisés comme indice de contamination fécale (Pillet et al., 2005; Jamet, 2009).

### III-6-Les leuconostocs :

Les leuconostocs sont généralement rencontrés dans le lait cru et les fromages fermiers et sont même utilisés dans la fabrication de fromage (Roquefort) en raison de leur production de composés aromatiques (diacétyle, acétoine...) et de CO<sub>2</sub> (hétéro-fermentaires) qui participe à l'ouverture du fromage permettant le bon développement de *P.roquefortis*.

Certaines espèces possèdent également la particularité de métaboliser l'acide citrique du lait en diacétyl avec l'association d'autres bactéries lactiques permettant ainsi l'obtention de l'arôme de beurre dans les fromages frais (**Jamet, 2009**).

### III-7-Flore apportée :

Les ferments lactiques utilisés sont des souches commercialisées telles que les bactéries mésophiles lactiques employées dans les fabrications au lait de vache, se sont des flores d'acidification (*Lactococcus lactis* et *Lc. cremoris*) et d'aromatisation (*Lactococcus* ssp. *Lactis* biovar *diacetylactis*), mais aussi des bactéries thermophiles (*Streptococcus thermophilus*) utilisées dans les fromages à prise rapide (camembert) pour leur pouvoir protéolytique, permettant d'avoir un goût plus développé (**Jaouen et Mouillot, 1985**).

### III- 8- Flore de contamination :

D'après **Eck et Gillis (2006)**, le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement, c'est le caractère physico-chimique et les conditions d'affinage et de stockage qui les définissent, trois critères sont importants:

- L'activité de l'eau ( $A_w$ ) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95.
- Le potentiel d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne.
- Le pH variable dans le temps, en surface et en profondeur d'un fromage à un autre, la gamme 4,5-5,2 est la limite pour l'inhibition des microorganismes, néanmoins certaines exceptions sont visibles dont les champignons qui croient à un pH inférieur à la limite.
- En absence de traitement thermique pour les fromages au lait cru, les bactéries pathogènes s'accroissent fortement (conditions technologiques favorables) et peuvent être d'origine exogène (environnement) ou endogène (animale malade), la plupart de celles retrouvées dans le fromage sont des ubiquistes : bactéries originaire du lait cru (agents de mammites), *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*.

#### **IV- Normes microbiologiques**

De nombreuses méthodes microbiologiques de recherche ou de dénombrement des microorganismes ont été développées et sont largement utilisées en routine.

En se référant aux normes de **J.O.R.A 1998**

- Les différentes normes sont données en annexe 03

# **C**hapitre II:

## **Matériel et méthodes**

### I- Prélèvement et échantillonnage

#### I -1- Lieu d'étude :

Ce travail a été réalisé au niveau des laboratoires pédagogiques de la biochimie appliquée et de la microbiologie pendant une durée de 04 mois de l'année universitaire 2018/2019. Université Kasdi Merbah-Ouargla.

#### I -2-Echantillonnage:

L'échantillon du lait de vache a été prélevée de Daira de Hassi Messaoud wilaya de Ouargla de la région de Hassi El Bekra, le traite a été réalisé par l'éleveur dans les conditions normale à 6h Am et transporté rapidement au laboratoire dans une température de 4°C.

#### I -3-Souche utilisée :

La souche utilisée c'est : *Leuconostoc mesenteroides* subsp *cremoris* isolée et purifiée par l'étudiante « Djouhri khadra » sous le travail de « Etude microbiologique d'un produit laitier fermenté traditionnel (J'ben) : isolement et identification des bactéries lactiques » La souche a été enrichis dans un milieu de MRS liquide et repiquée 03 fois dans un milieu solide de MRS. Jusqu'à l'obtention des colonies bien déterminées.

#### I – 4 -Traitement du lait :

Le lait a été stérilisé par autoclavage : 120°C/215 min. était réalisé comme suite :

Les flacons de verre de lait sont déposés dans les paniers métalliques de l'autoclave dont on aura vérifié le niveau d'eau avant chaque opération de stérilisation. Les récipients sont préalablement bouchés avec du coton (éviter de le prendre avec les doigts - utiliser de préférence une pince) et recouverts de papier d'aluminium ou de papier d'emballage très résistant.

La stérilisation du lait à pour but d'éliminer la charge microbiennes du lait cru pour pouvoir introduire les leuconostocs en s'assurant que le lait va être fermenté seulement par cette souche.

### II- Analyse du lait :

#### II.1 Analyse physicochimique du lait cru et du lait stérile :

##### II -1-1 Mesure de pH : (Norme AFNOR n° NF T 90-031)

###### ➤ Principe :

Le pH par définition est la mesure de l'activité des ions  $H^+$  contenus dans une solution. La mesure du pH, renseigne sur l'acidité du lait. Ce dernier est considéré frais si son pH est compris entre [6,4 à 6,8].

###### ➤ Mode opératoire :

- Etalonner le pH mètre avec deux solutions tampons de pH=4 et pH=7.
- Rincer l'électrode avec l'eau distillée.
- Plonger l'électrode dans un bécher contenant le lait a analyser et lire la valeur de pH stabilisée.

###### ➤ Expression des résultats :

Le résultat est afficher directement sur le pH mètre (HI2210 HANA instrument).

##### II -2-1 Acidité titrable :

###### ➤ Principe :

L'acidité est déterminée par le dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à N/9. La présence de phénolphtaléine, comme indicateur coloré, indique la limite de la neutralisation par changement de couleur (rose pâle).

Cette acidité est exprimée en degré Dornic ( $^{\circ}D$ ) où:  $1^{\circ}D$  représente 0,1 g d'acide lactique dans un litre de lait. (NF V04-305, 1985).

###### ➤ Mode opératoire :

- Remplir la burette de la solution de NaOH (N/9), régler le niveau du liquide à Zéro.
- A l'aide de la pipette de 10 ml, prélever 10 ml de lait et transférer dans un bécher de 100mL.
- Ajouter 3 à 4 gouttes de solution de phénolphtaléine et titrer jusqu'à l'apparition d'une couleur rose persiste 30 Seconde.
- Noter le volume de solution titrant utilisé en dixièmes de millilitres.

### ➤ Expression des résultats :

L'acidité est exprimée en degré Dornic « °D » qui correspond à 0,1 ml de la soude Dornic, ou en gramme par litre d'acide lactique.

$$0,1 \text{ ml de NaOH} = 1^\circ\text{D}$$

### II -1-3 Détermination de l'extrait sec total :

#### ➤ Principe :

On entend par «matière sèche» du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la norme (AFNOR, 1985).

#### ➤ Mode opératoire :

- Dans la capsule séchée et tarée, introduire à l'aide de la pipette 5ml de lait.
- Introduire dans l'étuve réglée à  $103^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 3 heures.
- Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.
- On pèse en suite à l'aide d'une balance analytique le résidu.

#### ➤ Expression des résultats :

La matière sèche est exprimée en pourcentage comme suit :

$$\text{EST} = [(M1-M0)/(M2M0)].100$$

M0 : est la masse en grammes de la capsule vide.

M1 : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

M2 : est la masse en grammes de la capsule et de l'échantillon avant dessiccation

### III - Analyse microbiologique du lait:

Il repose sur la recherche et dénombrement des germes pathogènes ou d'altération ou celles utiles, l'analyse consiste à rechercher les germes sulfito-réducteurs, *Staphylococcus aureus* les streptocoques les levures et moisissures les coliformes totaux et fécaux et à le dénombrement des germes totaux, la flore lactique. En se référant aux normes de **J.O.R.A (1998)**

L'analyse microbiologique du lait est expliquée dans la **figure (01)**

### III-1 Test réductase :

Grâce à leur réductase, la multiplication des bactéries dans le lait conduit à une chute du potentiel redox qui peut être mis en évidence par un indicateur rox/red

➤ **Mode opératoire (Poffé et al, 1996)**

- 1 ml de solution de BM.
- 10 ml de lait
- 1 ml de Bleu de méthylène est ajouté stérilement à 10 ml de lait à analyser
- Agitation pour homogénéiser
- Incubation 37° C dans un incubateur muni d'un couvercle opaque - agitation toutes les heures.

➤ **Lecture (Guirraud, 1998) :**

- Décoloration dans un temps < à 1h → population  $2.10^6$  à  $10^7$  germes /ml
- Décoloration dans un temps < 2h (< 1h 30) → lait contaminé.
- Décoloration dans un temps compris entre 2 et 4h → lait peu contaminé
- Décoloration dans un temps supérieurs à 4h → lait de bonne qualité



## Matériel et méthodes

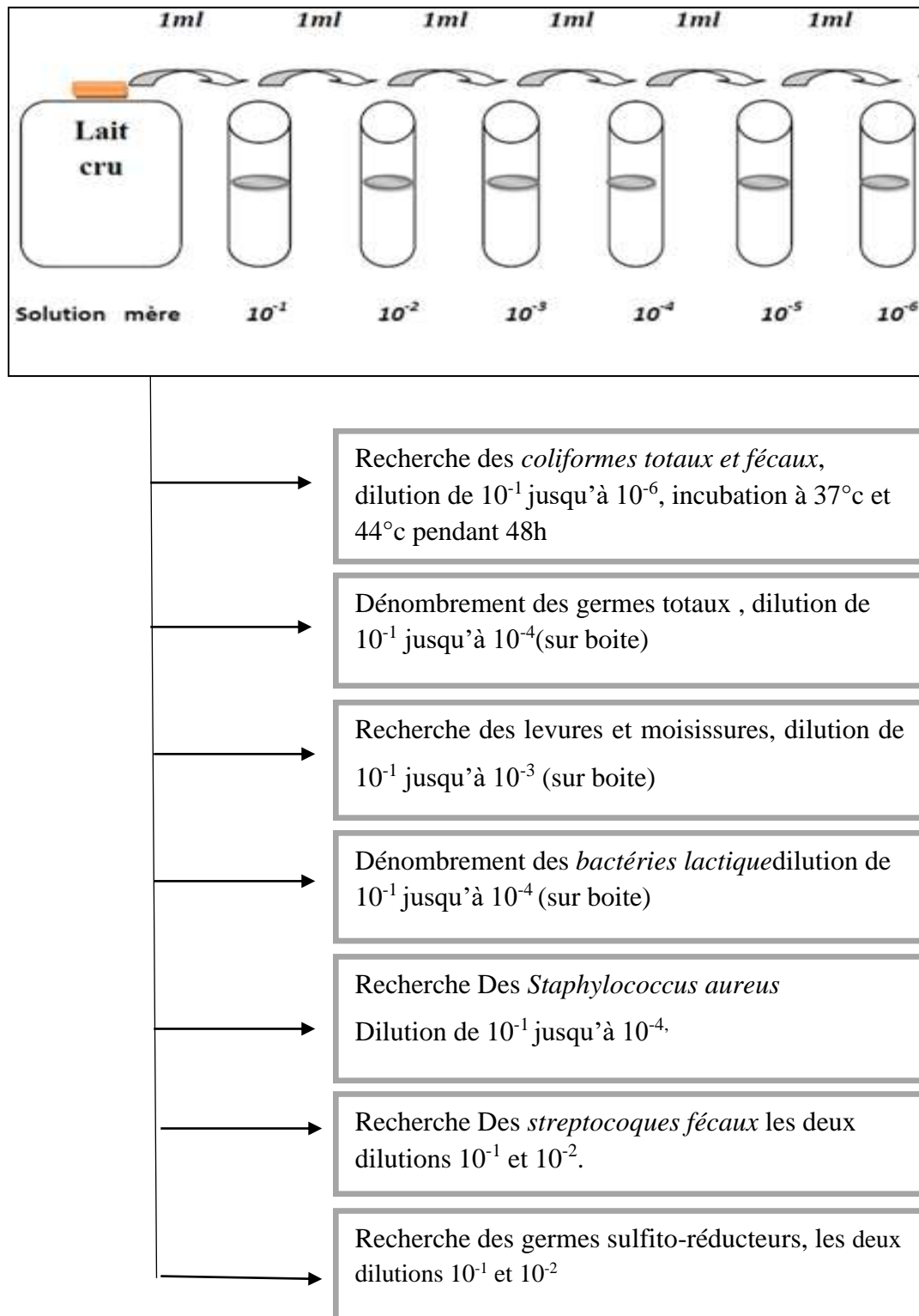


Figure 01 : protocole des analyses microbiologiques du lait cru et de fromage frais

### III-2- Dénombrement des germes totaux :

Les microorganismes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs, peuvent se développer dans un milieu nutritif non sélectif (PCA). Incubés à 30°C pendant 72 h (**Guiraud, 2012**)

Le but de ce dénombrement est d'estimer l'indice de la salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel (**Bonnyfoy et al., 2002**)

### III-3- Recherche des *coliformes totaux et fécaux* :

Les Coliformes se caractérisent par leur aptitude à fermenter le lactose. Le dénombrement est réalisé sur milieu liquide BCPL (milieu lactosé biliée au cristal) ceux totaux sont incubés à 37°C pendant 48h alors que ceux fécaux sont incubés à 44°C pendant 48h (**Guiraud, 2012**)

L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale, leur présence dans l'eau permet de déceler une contamination fécale (**Betrand, 2008**)

### III-4- Recherche des levures et moisissures :

Il est basé sur le dénombrement en aérobie par comptage des colonies sur milieu solide sabouraud à 25°C pendant 03 jours (**Vignola, 2002**)

Le but de la recherche des levures et moisissures c'est de déterminer l'état de consommation du produit, car un taux élevé des levures et moisissures rend le produit non consommable (**Guirraud, 2003**)

### III-5- Dénombrement des *bactéries lactique*

Les bactéries lactiques plus particulièrement les lactobacilles sont isolées à partir le lait et les produits laitiers sur milieu MRS solide, incubés à 30°C pendant 24h.

### III-6- Recherche Des *Staphylococcus aureus*

Leur recherche peut se faire en masse et en surface repose sur l'emploi de milieu de culture, Chapman comme milieu d'isolement sélectif, incubé à 37°C pendant 24h (**Guiraud, 2003**)

L'étude de recherche *Staphylococcus aureus* permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (**Guirraud, 1998**)

### III-7- Recherche Des streptocoques fécaux :

Les Streptocoques du groupe D de lancefield ou Streptocoques fécaux sont recherchés en milieu liquide. La technique fait appel à deux tests à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des Streptocoques sur milieu de Roth.
- Le test de confirmation Les tubes trouvés positifs sur milieu Rothe (présence d'un trouble) sont repiqués sur milieu Eva Litsky. Après 24h d'incubation à 37°C, la présence d'un trouble. (Guirraud, 2003)

Ces streptocoques sont des hôtes commensaux de la flore intestinale et sont parfois responsables de spécimies ou d'endocardites (pebret, 2003)

### III-8- Recherche des germes sulfitoréducteurs :

Les spores de Clostridium sont recherchés sur gélose viande foie (VF) additionnée d'alun de fer et de sulfite de sodium, sont incubés à 37°C pendant 24h.

A cause de la résistance considérablement dans les milieux naturels de ses spores, ils ont un pouvoir de détruire le sulfite de sodium et donner en présence du fer, du sulfure de fer d'où une coloration noire (Bourgois et Larpent, 1996)

La recherche de ces germes est éventuellement considérable à leur pathogénicité.

## IV- Production du fromage frais

La quantité du lait frais est fermenté spontanément (E1) et le reste est fermenté par l'ajout de la souche *Leuconostoc mesenteroides* subsp *cremoris* chaque type (E1) et (E2) est divisé en deux (E1'') et (E2'') sont affinés par le sel et le reste est conservé dans 4°C (E1') et (E2').

### IV-1- Coagulation :

Concernant la formation de caillé d'E1 la coagulation est lactique dans une température de 25 à 28°C pendant 48h

Pour la formation du caillé d'E2 la coagulation est assurée par leuconostoc dans un récipient stérile à une température de 25 à 28°C

### VI-2- Egouttage :

L'égouttage a été par essorage rapide (tissu de mousseline). C'est un égouttage lent pendant 24h

Le salage est une étape facultative de la production du fromage qui succède à l'égouttage, elle est réalisée selon le goût du fromage pour inhiber le développement microbien et accentuer la saveur (Benkerroum et Tamime, 2004)

Le salage est effectué par saupoudrage superficielle.

**E1:** Fromage frais fermenté spontanément

**E1'**: Fromage frais conservé à 4°C

**E1''**: Fromage frais salé conservé à 4°C

**E2:** Fromage frais fermenté par leuconostoc

**E2'**: Fromage frais fermenté par Ln conservé à 4°C

**E2''**: Fromage frais fermenté par Ln salé conservé à 4°C

### **V- Analyse du fromage :**

#### **V-1-Analyse physicochimiques du fromage :**

##### **V-1-1- Mesure du pH** (Norme AFNOR n° NF T 90-031)

###### ➤ **Principe**

Le principe de la mesure du pH est le même pour toutes les analyses. La mesure du pH est réalisée à l'aide d'un pH-mètre. Le pH de l'échantillon est obtenu par lecture directe du chiffre affiché sur l'appareil après sa stabilisation

###### ➤ **Mode opératoire**

Etalonner le pH, introduire l'électrode dans une solution de 10g +90ml d'eau distillée et lire.(Guirraud, 2003)

##### **V.1.2 Détermination de l'acidité titrable :** (NF V04-206 Janvier 1969)

###### ➤ **Principe**

La détermination de l'acidité du lait (de yaourt étuvé aromatisé ou fromage frais) est basée sur la neutralisation de l'acidité lactique dans le lait par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré (Poillot, 2010).

###### ➤ **Mode opératoire :**

- Préparer une solution de 10g de fromage avec 90ml d'eau distillée stérile .Chauffer le mélange à 40°C
- Placer 10ml de la solution préparée dans un bêcher de 100ml, ajouter quelques gouttes (3 à 4) de solution de phénolphtaléine
- Positionner l'échantillon à doser sous l'acidimètre .Titrer une solution d'hydroxyde de sodium NaOH jusqu'au début de virage au rose facilement perceptible par comparaison avec la solution témoin constituée du même produit analysé.

### ➤ Expressions des résultats

Les résultats sont exprimés en degré Dornic (°D). Il correspond à la valeur lue sur la burette après le titrage en appliquant la formule suivante :

$$\text{Acidité (°D)} = V \times 10$$

V (ml) : Volume de la chute de la burette

### V-1-3 Détermination de l'extrait sec total (ESC) (NF EN ISO 5534 Octobre 2004)

#### ➤ Principe :

La méthode consisté à mettre 5 g de fromage dans une capsule d'étuvage qui est placée dans une étuve à une température comprise entre 101°C et 105 °C pendant 3 heures. Les capsules sont ensuite transférées dans un dessiccateur pendant quelques minutes le temps qu'elles refroidissent et atteignent la température ambiante, puis elles sont pesées. Le résultat est calculé selon la formule :

$$\text{EST} = (P3 - P1) / (P2 - P1) * 100$$

Avec :

- ✓ P1 : le poids de la capsule vide ;
- ✓ P2 : le poids de la capsule + poids du fromage avant étuvage
- ✓ P3 : le poids de la capsule plus celui du fromage après étuvage et dessiccation.

### V-2 analyse microbiologique du fromage :

C'est un analyse temporelle différente, les tests microbiologique du produit fini sont les mêmes ceux qui sont de matière première précédemment expliqués.

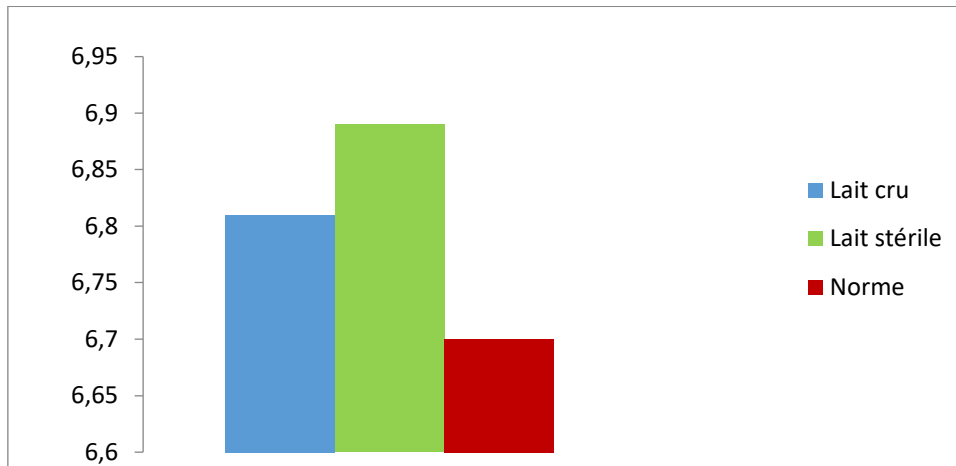
Les analyses microbiologiques révèlent la qualité hygiénique et donc sanitaire du produit. Un aliment sain, ne doit pas contenir des germes indésirables ; soit pathogènes ou d'altération (**Guirraud, 2003**). En se référant au journal officiel Algérien 1998.

# **C**hapitre III :

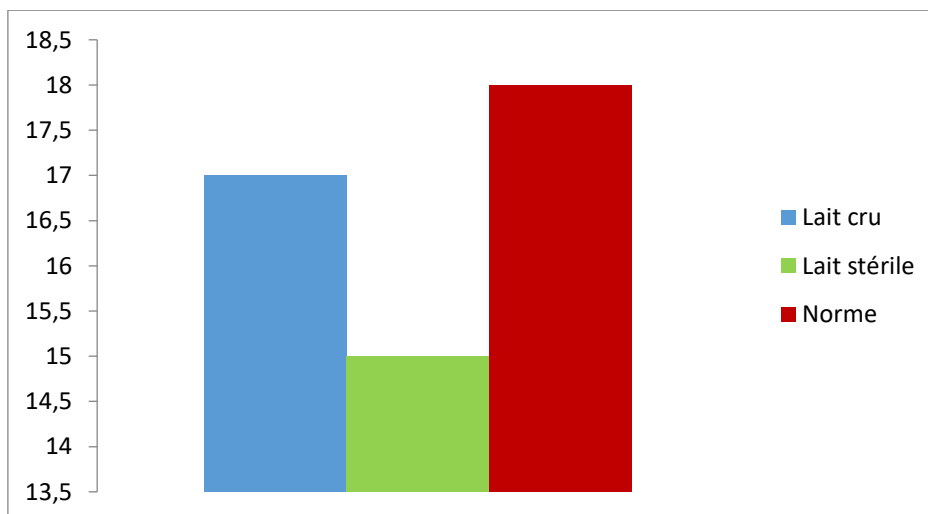
## **Résultats et discussion**

### I- Analyse physicochimique du lait cru et stérile

L'analyse physicochimique du lait cru et stérile au premier jour a révélé des résultats sont montrés dans **figure 03, 04 et 05** :



**Figure 02** : analyse du pH du lait



**Figure 03** : Analyse de l'acidité du lait (D°)

#### I-1- Détermination de pH et d'acidité :

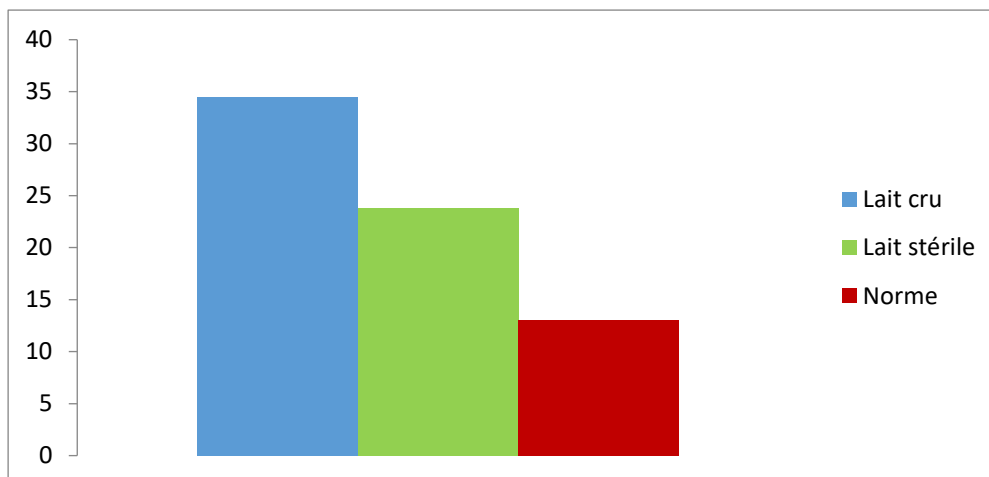
Le lait cru analysé présente un pH de 6,81 et une acidité Dornic de 17°D, Alors que ceux qui est stérile présente un pH de 6,89 et une acidité Dornic de 15°D.

Attendu que l'échantillon du lait stérile présente une valeur de pH plus élevé que le lait cru, ceci est probablement du à la réduction de la charge microbienne sous l'effet de la

température, ce qui entraîne l'abaissement de la production d'acide lactique par ces bactéries. Selon **Carole, 2002** ces valeurs témoignent de la fraîcheur du lait cru et stérile. Le pH d'un lait de vache frais varie entre 6,6 - 6,8. Un lait de pH supérieur à 6,8 est un lait alcalin il est donc pathologique (lait de mammites) ou un lait de fin de lactation, ou fortement mouillé ce qui est évidemment défavorable à une croissance correcte des bactéries lactiques.

(**Eck et Gillis, 2006**). Mais encore on a constaté une valeur d'acidité dans le lait stérile plus faible que celle de lait cru, l'acidité titrable du lait dépend du nombre de moles d'acides présents dans ce produit est inversement proportionnelle à son pH (**Mathieu, 1998**).

Soit que l'acidité titrable diminue avec l'augmentation de la température, ceci est probablement dû à la réduction de la charge microbienne sous l'effet de la température, ce qui entraîne l'abaissement de la production d'acide lactique par les bactéries lactiques.



**Figure 04 : analyse de l'extrait sec total du lait (%)**

### I-2 Détermination de l'extrait sec total :

Le taux de l'extrait sec total enregistré du lait cru est de 34,44% alors que du lait stérile est de 23,8%. Selon **Diao, 2000**, cette augmentation ne traduit pas une aptitude de la vache à synthétiser plus de matière sèche, mais une concentration de matière fabriquée dans une quantité moindre de lait.



## II- Analyse microbiologique du lait cru :

La composition du lait influence les caractéristiques de fromage et contribue, par sa variabilité à leur diversité. Dans les fromages au lait cru, la microflore naturelle et sans doute un facteur fondamental pour la typicité de ces fromages. (Buchin et Beuvier, 2000)

### II-1- Test de réductase :

Le lait cru a montré une décoloration pendant plus de 4h, celui révèle la bonne qualité hygiénique du lait.

Les bactéries se multiplient dans le lait ont la capacité d'abaisser le potentiel d'oxydoréduction (Redox) grâce à l'action de leurs réductases. La rapidité de la décoloration due au métabolisme bactérien est directement proportionnelle au nombre de bactéries présentes. La décoloration du lait analysé ne s'est produite qu'au bout de 14 h ce qui témoigne de la faible quantité des bactéries présentes dans ce lait et de sa bonne qualité microbiologique (Guiraud, 1998).

### II -2- Dénombrement des flores microbiennes du lait cru :

L'analyse microbiologique réalisée consiste en un dénombrement de la flore mésophile totale, les bactéries lactiques les coliformes totaux et fécaux (CT, CF) *Staphylococcus aureus* les levures et moisissures, les streptocoques et les germes sulfite-réducteurs, les résultats sont montrés dans le tableau suivant :

**Tableau V** : Dénombrement des flores microbiennes du lait cru :

Germes	Taux (Log UFC/ml)	Normes (J.O.R.A, 1998)
Germes aérobies à 30°C	$1,5 \times 10^6$	$10^5$
Coliformes Totaux	$6 \times 10^3$	$10^3$
Streptocoque fécaux	absence	Absence /0,1ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	$0,2 \times 10^6$	Absence
Clostridium sulfite-réducteur à 46°C	Absence	50

D'après **Guiraud (1998)**, la flore mésophile totale est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits, ainsi le nombre des germes totaux pourra donner une indication de l'état de fraîcheur ou de la qualité sanitaire du produit, le résultat obtenu : ( $1,5 \times 10^6$  UFC/ml), est au dessus de la norme élaborée par **J.O.R.A, 1998** qui tolère un taux de  $10^5$  UFC/ml, ce lait est de mauvaise qualité.

Selon **Farris, 2009** un taux élevé de cette flore est due à un manque d'hygiène dans le matériel de traite, la peau du pis, la glande mammaire et les mains du manipulateur (**Ménard et al., 2004 ; Zeller, 2005**) car le lait dans les cellule du pis est stérile(**Tolle, 1980**)

Un taux de  $6 \times 10^{-3}$  UFC/ml de coliformes totaux était observé ce qui est inférieur à la norme de **J.O.R.A, 1998** qui considère un taux de  $10^3$  UFC/ml.

Vu que la contamination du lait par les coliformes, peut être d'origine fécale, due à l'excrétion mammaire puisque ces bactéries peuvent être un facteur favorisant les mammites, ou par une eau contaminée utilisée pour les différentes opérations de nettoyage (**Wattiaux, 2003**). En raison de l'absence des coliformes fécaux dans le lait.

De plus, ce lait révèle un taux de  $1,4 \times 10^5$  UFC/ml de flore lactique, ces bactéries lactiques font partie de la flore normale du lait et se caractérisent par leur aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc abaissement du pH, les germes lactiques peuvent être divisés en deux groupes:

- Les homofermentaires qui sont capables de produire plus de 95 % d'acide lactique à partir du lactose; les 5 % restants sont constitués par les corps carbonylés : gaz carbonique ( $\text{CO}_2$ ), cétones, aldéhydes.
- Les hétérofermentaires qui produisent peu d'acide lactique. Ces ferments lactiques appartiennent à deux familles: les Streptococcaceae et le Lactobacillaceae. (**Laurent, 1992**)

Le taux des levures et moisissures dans le lait étant de  $1,8 \times 10^6$  UFC/ml, les levures et moisissures peuvent avoir un effet néfaste sur la qualité du produit (**Guiraud, 2003**)

D'une autre part, on a constaté la présence de  $0,2 \times 10^6$  UFC/ml de *Staphylococcus aureus*, d'après le **J.O.R.A, 1998** ce lait est contaminé, la présence de *S.aureus* le rend inconsommable.

Selon (**Hennekinne, 2009**) la contamination du lait cru peut être due à la présence dans un troupeau d'animaux présentant des mammites à *S. aureus*. Portage de *S. aureus* au niveau de la peau de la mamelle, des narines des animaux, des muqueuses génitales et du tube digestif; infections staphylococciques (infections cutanées, abcès).

### ➤ **Epreuve de coagulase :**

Le résultat dans les tubes à hémolyse après 3h sont montrés dans l'annexe 03 le résultat est positive et donc *Staphylococcus aureus* isolé à partir du lait cru est un coagulase+ sachant que les colonies ont présentés (après la coloration de Gram) un catalase+

### **III- Analyse du fromage frais :**

#### **III-1- Analyse organoleptique :**

La qualité des fromages est largement déterminée par la perception sensorielle qui est un processus complexe. Elle est influencée par plusieurs facteurs tels que le contenu en composés aromatiques, la texture et l'apparence (**Edima, 2007**)

L'appréciation d'un fromage est basée d'une part sur l'analyse physico-chimique, et d'autre part sur les qualités sensorielles observables comme l'apparence, l'odeur et le goût, la structure de la pâte, les propriétés de la croûte, etc. (**Bugaud et al., 2002**)

Le test organoleptique des échantillons a été réalisé après la réalisation des tests microbiologiques le jour de fabrication ainsi après sa conservation à 4°C au bout de la première semaine. Selon (**Afroun et Djahit, 2016**) :

#### **III-1- 1- Texture :**

Les tableaux de test organoleptique sont mentionnés dans l'annexe 03, ce qui concerne la texture, le fromage fabriqué E1 avait une texture très ferme et granuleuse en bouche contrairement au fromage fermenté par *Leuconostoc* qui a eu une texture molle et lisse en bouche.

Au bout de la première semaine la texture apparaît plus compact pour le fromage E1 conservé à 4°C aussi bien pour le salé, il est remarquable que le séchage de fromage fermenté par *Leuconostoc* est négligeable par rapport au fromage E1.

#### **III –1 –2- Odeur :**

L'odeur de fromage fermenté par Ln est plus forte (production de didactyle) que ceux fermenté spontanément qui a eu une odeur faible, au bout de la première semaine, ce dernier a présenté une très forte odeur expliquée par la présence des coliformes fécaux

Alors que le fromage fermenté par Ln a gardé le terme d'odeur initiale.

#### **III – 1- 3 Goût :**

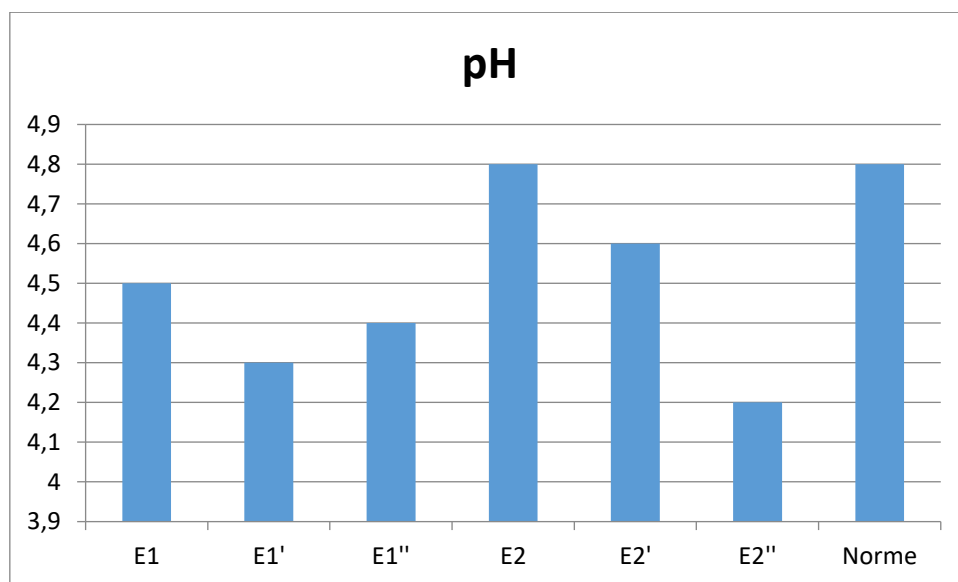
Le fromage fermenté par Ln E2 avait un goût salé faible.

#### **III -1- 4 Couleur :**

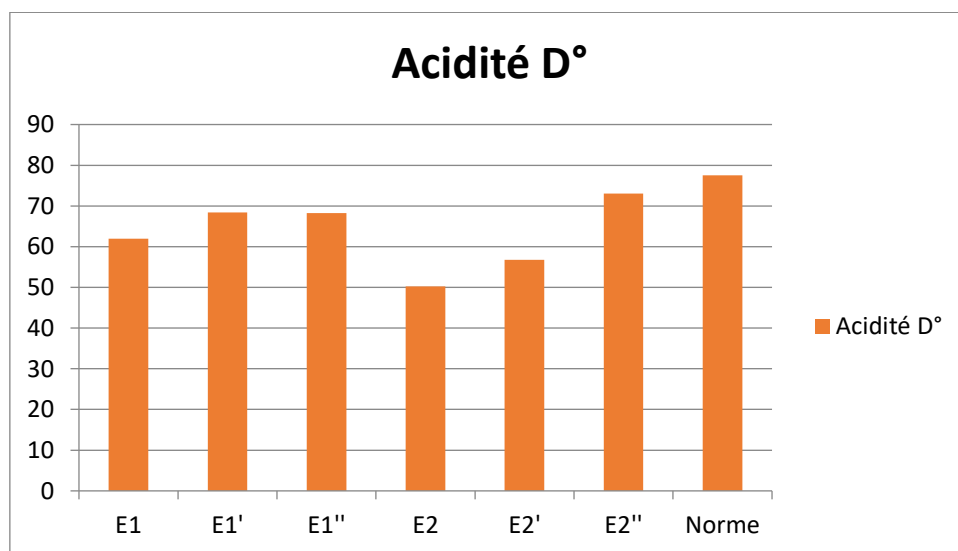
Tous les échantillons de fromage ont présentés une couleur blanche dans le premier analyse, cette coloration devient blanchâtre après une semaine.

### III -2- Analyse physicochimiques du fromage :

L'analyse physicochimique du fromage frais fabriqué à fermentation spontanée et par Ln au bout d'une semaine de conservation à 4°C avec le salage exercé a révélé les valeurs montrés dans les **figure 05, 06 et 07** :



**Figure 05** : Détermination pH du fromage frais fabriqué.



**Figure06** : Détermination de l'acidité du fromage frais fabriqué (D°)

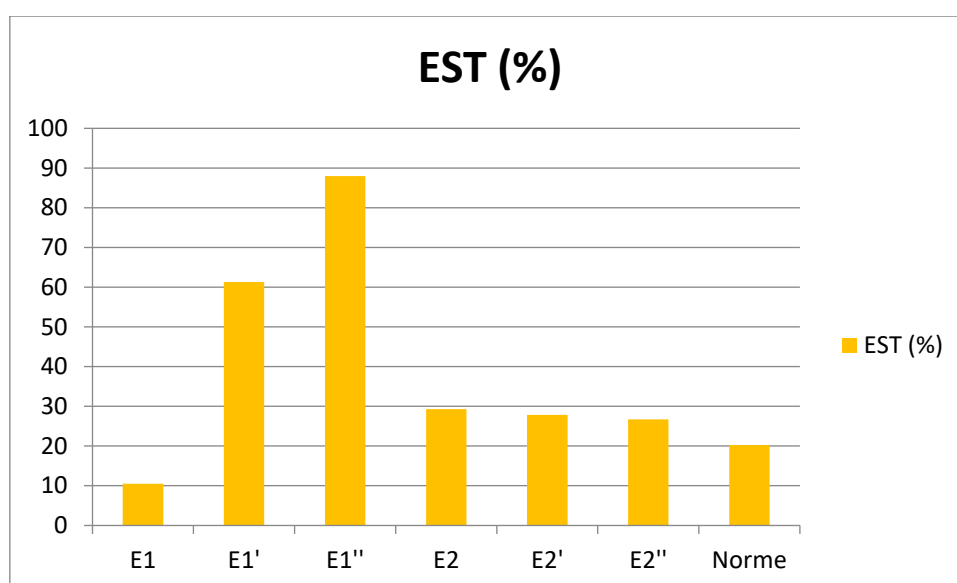
#### III-2-1 Mesure du pH et d'acidité :

Le pH des 6 échantillons de fromage frais analysé est compris entre 4,2 et 4,8 ces valeurs vont bien avec la norme de fromage marocain (**Hamama,1989**)

Le pH présent une légère diminution durant la durée de stockage (**Gaucheron et al., 2004**)

Des études faites par **Rhaitet *al.*, 2011** et **Soussa et Malacata, 2002** et **Aquilanti, 2011**. Ont rapporté dans leurs travaux que l'acidité du fromage dépend de la nature et de la composition initiale du lait utilisé pour sa fabrication, l'activité acidifiante est l'une des principales fonctions des bactéries lactiques, ces dernières provenant des matières premières du lait ou de l'environnement sont responsables de la production d'acide lactique et son accumulation dans le fromage ce qui explique la diminution du pH.

L'échantillon paraît plus acide c'est ceux de fromage salé fermenté par Ln E2'' ainsi le fromage E1'



**Figure 07 :** Détermination de l'extrait sec total du fromage frais fabriqué(%)

.Selon (**Alais, 1984**), le taux d'extrait sec varie d'un type de fromage à un autre, et dépend d'une part de la composition initiale du lait et d'autre part de la manière dont sont effectués la coagulation et l'égouttage. C'est le cas des deux fromages fabriqués dans notre étude, E1 et E2 qui ont présentés des valeurs différentes d'extrait sec total. Savoir l'influence de mouillage de lait ou des pratiques d'alimentation et de la race mais encore de la conservation et de salage de chacun.

D'après les résultats obtenues, nous remarquons une légère diminution de la teneur en matière sèche au niveau de fromage E2, E2' et E2'', cette baisse est acceptable de fait que la diminution est négligeable ; elle peut être due : à la présence des bactéries protéolytiques ou de la dénaturation des protéines par l'acidité du milieu (**Anonyme 1**)

## Résultats et discussion

Contrairement au fromage E1 qui a eu des taux progressivement élevé E1, E1' et E1'' cela peut être expliqué par l'augmentation de la biomasse bactérienne, en raison de l'utilisation du lait cru pour fabriquer ce fromage.

### IV- Analyse microbiologiques du fromage frais :

#### IV-1- Dénombrement des flores microbiennes s du fromage frais :

La qualité microbiologique du fromage dépend de celle du lait de départ, du processus de fabrication qu'il a subi et de son âge (Ercolini *et al.*, 2009). Les résultats obtenus de l'analyse microbiologique des deux fromages frais fabriqués sont expliqués comme suivant:

**Tableau VI** : Dénombrement des flores microbiennes du fromage frais :

	Lait	E1	E1'	E1''	E2	E2'	E2''	Normes
<b>FMAT</b>	$1,5 \times 10^5$	$0,8 \times 10^6$	$0,8 \times 10^7$	$0,3 \times 10^7$	$0,6 \times 10^7$	$2,2 \times 10^8$	$0,1 \times 10^7$	$1,43 \times 10^7$
<b>Coliformes</b>	$0,6 \times 10^{-2}$	Absence	absence	$0,15 \times 10^3$	$0,9 \times 10^2$	$0,4 \times 10^2$	absence	10
<b>Coliformes</b>	Absence	$2,5 \times 10^2$	absence	absence	absence	Absence	absence	1
<b>Fécaux</b>								
<i>Staphylococcus aureus</i>	$0,2 \times 10^6$	absence	absence	absence	absence	Absence	Absence	10
<b>Bactéries lactique</b>	$1,4 \times 10^5$	$1,3 \times 10^6$	$0,4 \times 10^7$	$6,8 \times 10^5$	$0,8 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$0,1 \times 10^7$	/
<b>Levures et moisissures</b>	$1,8 \times 10^6$	$0,1 \times 10^7$	$1,3 \times 10^6$	$2,6 \times 10^6$	$2,5 \times 10^6$	$0,8 \times 10^7$	$0,5 \times 10^7$	/
<b>Streptocoques</b>	Absence	absence	présence	présence	absence	Présence	présence	/
<i>Streptocoques fécaux</i>	absence	absence	présence	présence	absence	Présence	présence	/
<b>Germes sulfuto-réducteurs</b>	Absence	Absence	absence	absence	absence	Absence	absence	/

/ : Pas d'analyse.

### IV-1-1- Flore mésophile totale :

Selon **Alais, 1984** La flore totale est considérée comme bon indicateur de contamination globale et renseigne sur la qualité hygiénique du fromage (**Guinot et al., 1995**). De ce fait nous pouvant conclure qualité hygiénique du fromage.

Les résultats sont mentionnés dans le **tableau VI** :

L'analyse microbiologie du fromage frais au premier jour E1, montre un taux de flore total de  $0,8 \times 10^6$  UFC/g, après une semaine de conservation à 4°C notant un taux de  $0,8 \times 10^7$  UFC/g, ce résultat est inférieur par rapport à celui rapporté dans le Jben Marocain ( $1,43 \times 10^7$  UFC/g). Cependant, la charge de la FMAT diminue pendant le salage jusqu'à atteindre une charge de  $0,3 \times 10^7$  UFC/g au bout d'une semaine de salage, cela peut être expliqué par l'effet exercé de ce dernier. C'est la même chose avec le fromage fermenté par leuconostoc.

- Les deux fromages frais fabriqués sont conformes à la norme.

### IV-1-2- Les coliformes :

Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts, les coliformes totaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 37°C les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif, qui sont plus thermotolérants (détectés à 44°C) sont considérés des indicateurs d'une contamination d'origine fécale qui permet de juger l'état hygiénique d'un produit

#### ➤ Coliformes totaux :

Les résultats obtenues de la recherche des coliformes totaux à 37°C dans le fromage frais fabriqué E1 et E2 au premier jour et après la conservation à 4°C, sont montrés dans le **tableau VI**

Le fromage fabriqué dans notre étude montre l'absence des coliformes totaux au jour de fabrication « E1 » ainsi qu'au bout de la première semaine E1', mais qu'ils apparaissent dans E1'' malgré le salage de ce dernier, avec un taux de  $0,15 \times 10^3$  UFC/g

- Ce fromage (E1'') n'est pas conforme à la norme de **J.O.R.A, 1998** qui considère un taux de 10 germes/g.

Cependant, la qualité microbiologique du fromage frais traditionnel fabriqué à partir du lait cru ne peut pas être valablement évaluée par le dénombrement des flores de contamination fécale en raison du caractère fermentaire de ce produit. (**Hamama, 1989**)

Le degré de contamination du fromage par les bactéries coliformes peut être lié aux conditions d'hygiène dans lesquelles s'effectuent la préparation et la manipulation des produits. (**Tesone et Quevedo, 1978**).

D'autre part, le fromage fermenté par leuconostoc a eu un taux de  $0,9 \times 10^2$  germe/g au premier jour de production.

- Ce n'est pas donc conforme à la norme.

Le fromage conservé à 4°C E2' a montré un taux plus bas :  $0,4 \times 10^2$  germes/g en raison de l'effet de la conservation qui a diminué le pH à 4,6 selon, **Le Minor et Richard, 1993** les coliformes ne croit plus si le pH est inférieur ou égale à 4,5.

- Le fromage E2' n'est pas conforme à la norme.

En parallèle le fromage fabriqué E2'' a montré une absence des coliformes c'est expliqué par l'ajout du sel sec NaCl (1g/100g de fromage) selon (**Michel et al., 1997**) l'incorporation de Chlorure de sodium dans le fromage a pour objectif de régler l'activité de l'eau ( $a_w$ ) du fromage qui oriente et freinte les développements microbiens et les actions enzymatiques au cours de l'affinage (salage dans le cas du fromage frais)

- Le fromage frais fermenté par leuconostoc salé est conforme à la norme.
- **Coliformes fécaux :**

Ont les mêmes caractères que les coliformes totaux, la recherche des coliformes fécaux isolés à partir du fromage frais le jour de fabrication et au bout de la première semaine de conservation à 4°C, sont montrés dans le **tableau VI** :

On a marqué un taux de  $2,5 \times 10^2$  germes/g dans le fromage E1 au jour de production.

- Ce n'est pas conforme à la norme de **J.O.R.A, 1998** : (01germe/g)

Selon **Larpent, 1990** la présence des coliformes n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale. Des sources de contaminations sont également à



considérer tel que les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la traite.

Les coliformes fécaux ont montrés une absence au bout de la première semaine ainsi que pour le fromage salé. Cela est expliqué par la diminution du pH du milieu à 4.4-4.5, justifié par la prolifération de la flore lactique.

- Tous ces fromage : E1' E1'' sont conformes à la norme.

Le fromage fermenté par Ln nous assure l'absence des coliformes fécaux .E2, E2' et E2'', soit l'effet de la stérilisation du lait ; qui a un rôle dans la destruction des germes. En raison de la stérilisation du lait, l'effet de température sur les microorganismes pathogènes est la destruction de ces derniers, l'efficacité de la destruction se diffère par la durée de conservation qu'elles donnent au lait (**FAO: 86 AGRIS: S01**)

- Se sont des fromages conformes à la norme.

### **IV-1-3-Staphylococcus aureus :**

Touts les échantillons de fromage fabriqué dans cette étude montrent une absence de *Staphylococcus aureus* au jour de production également au bout de la première semaine.

- Les deux fromages fabriqués E1, E2 dans cette étude sont conformes à la norme.

Néanmoins, le lait cru analysé a eu une charge de  $0,2 \times 10^6$  UFC/ ml ce taux a été disparait après la production fromagère. Cela peut être expliqué par l'effet antagoniste entre les bactéries lactiques et *Staphylococcus aureus*, selon (**Corrieu et al., 2008**) le terme antagonisme désigne une lutte réciproque des deux populations par la production de molécules inhibitrices, généralement spécifiques.

*S. aureus* peut être isolé d'aliments très variés. Sa présence ne représente un risque que pour les aliments permettant sa multiplication rapide à une température favorable (**Sutherland et Varnum, 2002**). Pour devenir toxique, l'aliment doit constituer un milieu favorable à la croissance et à la toxinogénèse : riche en protéines, d'un pH voisin de la neutralité, ne renfermant pas de flore inhibitrice (**Hennekinne, 2009**) .

Le faite que le fromage constitue un milieu acide pour la croissance des *S. aureus*, il est évidemment que l'acide lactique produit par les bactéries lactique joue un rôle

d'acidification du milieu et à partir de là on aura un abaissement notable du pH à 4,6 ce qui est favorable à la conservation des aliments. Certaines d'entre elles synthétisent dans des conditions favorables des molécules inhibitrices pouvant avoir une action antibactérienne vis-à-vis des germes pathogènes. Comme *S. aureus* Elles sont de structure peptidique. Leur pouvoir antagoniste résulte aussi d'une compétition pour les substrats. (Corrieu *et al.*, 2008)

### IV-1- 4- Levures et moisissures :

Les valeurs trouvées des levures et moisissures à la surface de la gélose Sabouraud, sont mentionnés dans le **tableau VI** :

Le taux des levures et moisissures dans le lait cru étant de  $1,8 \times 10^6$  UFC/ml, la fabrication du fromage mène une diminution notable à  $0,1 \times 10^7$  UFC/g au niveau du fromage au jour de fabrication E1, ce taux est progressivement élevé avec le temps dont le nombre deviendra  $1,3 \times 10^6$  UFC/g après la première semaine de conservation à 4°C E1', ainsi pour le fromage salé :  $2,6 \times 10^6$  UFC/g, la croissance a continué pendant la réfrigération. De même le salage à sec (saupoudrage) à faible taux n'a pas réduit la charge. En effet, la méthode et le temps de salage a une influence majeure sur les changements de pH, c'est un processus relativement lent pour que le pH diminue à environ 4,4 avant que la concentration en sel ne devienne inhibitrice à l'intérieur du fromage (Condron *et al.*, 2009).

Cependant, au niveau du fromage fermenté par Ln leur taux été de  $2,5 \times 10^6$  UFC/g. Une augmentation est marquée à la première semaine de conservation E2' à un taux de  $0,8 \times 10^5$  UFC/g c'est tout comme le cas du fromage E1, avec une diminution à  $0,5 \times 10^5$  UFC/g due au salage. selon (Michel *et al.*, 1997) l'incorporation du chlorure de sodium dans le fromage a pour objectifs de régler l'activité de l'eau ( $a_w$ ) du fromage qui oriente et freinte les développements microbiens et les actions enzymatiques au cours de l'affinage.

A la suite, le caractère acido-tolérant des levures justifie leur présence dans les fromages au lait cru et dans les fromages au lait pas stérile. Les espèces les plus fréquemment isolées et identifiées en fromagerie appartiennent aux genres *Candida*, *Debaryomyces*, *Geotrichum*, *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Torulaspora* et *Yarrowia* (Fröhlich-Wyder, 2003). Les principales sources de contamination en levures proviennent de la saumure (salage), qui à elle seule peut fournir jusqu'à  $10^3$  ufc/g de levures (Viljoen *et al.*, 2003), et des locaux de fabrication et d'affinage (air, sols, murs, étagères, équipement

(Baroiller & Schmidt, 1990 ; Fleet, 1990 ; Viljoen *et al.*, 2003). L'évolution de la flore de levure est donc différente d'un type de fromage à l'autre. (Cholet, 2006)

Les moisissures diminuent la qualité organoleptique du fromage Bien que très généralement sans danger du fait de l'absence de mycotoxines, les produits sur lesquels elles prolifèrent sont le plus souvent considérés comme impropres à la consommation.(Poueme, 2006)

### IV-1-5- Flore lactique :

Est une flore utile, exploitée dans de nombreux processus de transformation du lait.

Nous avons isolés la flore lactique du fromage dont les résultats trouvés à la surface des boites sont montrés dans le **tableau VI** :

Le taux de la flore lactiques était de  $1,3 \times 10^6$  UFC/g au jour de fabrication E1 et de  $0,4 \times 10^7$  UFC/g au bout de la premier semaine E1', une augmentation a été remarquée et s'explique par la production des bactéries lactiques des composés inhibiteurs telles que les acides organique ( Acide lactique,..), inhibent la prolifération des microorganismes (Païrd et Desmazeaud, 1991) et en abaissant le pH par la production d'acide lactique (Gilliland, 1985).

D'autre part, le fromage fermenté par Ln a eu un taux de  $0,8 \times 10^7$  UFC/g le premier jour et de  $1,4 \times 10^7$  UFC/g après une semaine, cette augmentation est justifiée par l'adaptation des bactéries lactique à basse température. Les bactéries lactiques sont d'une grande importance dans le domaine de l'agroalimentaire. Les différentes étapes de processus auxquelles elles sont soumises, ainsi que les impératifs de conservation les exposent souvent à des températures suboptimales de croissance, voire même des températures potentiellement létales (congélation). Il est donc très important de pouvoir prévoir le comportement de ces bactéries dans les situations de stress froid, aussi bien au niveau de la survie que de la croissance. Cependant il a été observé que la résistance au froid variait fortement en fonction des espèces (Guchte *et al.*, 2002)

Au contraire, le taux de la flore lactique pour les des deux fromages salés après une semaine ont une valeur de  $6,8 \times 10^5$  pour E1'' et de  $0,1 \times 10^7$  UFC/g pour E2'' cette diminution par rapport aux taux de la flore lactique au premier jour ainsi après une semaine, est justifiée par l'effet de salage. (Michel *et al.*, 1997)

### IV-1-6- recherche des Entérocoques :

On a marqué l'absence des entérocoques dans le lait cru. De même au jour de fabrication du fromage dans cette étude E1 et E2.

En outre, la conservation à 4°C du fromage durant la première semaine des deux fromages fabriqués E1', E2' ainsi ceux qui est salé E1'', E2'' ont marqués une présence des entérocoques des groupes D; *Sreptococcus fecalis*.

La présence d'entérocoques peut-être détectée dans le fromage ou les produits fermentés. Du fait de leur grande adaptabilité aux conditions environnementales (**Boussouar, 2017**), cela peut expliquer la présence de ces germes après la conservation du fromage à 4°C, ils sont retrouvés à la fois dans les produits crus mais aussi dans les produits finis issues de l'industrie agro-alimentaire (**Foulquié Moreno et al., 2006**). Ces germes sont communément utilisés comme indicateur de contamination d'origine fécale afin de tester la qualité hygiénique des produits alimentaires (**Wheeler et al., 2002**).

Selon (**Guirraud, 2012**) les entérocoques plus particulière *Sreptococcus fecalis* sont faite parmi les flores indicatrices, la présence de ces microorganismes révèle la probabilité d'une contamination, donc d'une mauvaise qualité hygiénique et constitue souvent une préemption de la présence des microorganismes pathogènes beaucoup plus dangereux. Les streptocoques fécaux résistent à des mauvaises conditions, elles peuvent croitre par exemple à 6,5% de NaCl, cette notion explique la présence du *Sreptococcus fecalis* dans le fromage salé.

### IV-1-7- Les germes sulfito-réducteurs :

Les résultats révèlent une absence totales des germes sulfito-réducteurs dans le cru ainsi dans le fromage.

### Discussion générale :

Le fromage frais est considéré comme un produit laitier très fragile, la texture, la saveur et l'arôme de ce produit sont étroitement liée à la composition, la teneur en eau, taux protéine, matière grasse et les sels minéraux (**ECK et Gillis, 1997**).

Dans notre travail, nous avons effectué des analyses microbiologiques et physicochimiques sur un fromage frais fabriqué à partir du lait cru et du lait stérile au ferment ajouté : *leuconostoc mesenteroides subsp cremoris*, d'abord avec un suivi de son évaluation de la durée de conservation à 4°C, en deuxième lieu de son évaluation de point de vue de salage

effectué pour chacun, dont l'objectif de déterminer le produit le plus adapté au terme de la qualité hygiénique.

Les analyses physico-chimiques dont la mesure du pH et l'acidité, avec un contrôle de l'extrait sec totale durant toute la période de stockage; du point de vue microbiologique est porté sur la recherche de la flore microbienne qui est développée au cours de la conservation du fromage frais, parmi eux les germes aérobie mésophile totaux, ainsi les germes de contaminations fécale coliforme totaux et coliforme fécaux. La recherche des germes pathogène *Staphylococcus aureus*, la recherche des levures et moisissures, car leur présence avec un taux élevé peut provoquer des intoxications et un risque au consommateur.

Le taux des germes mésophiles aérobies totales du lait ( $1,5 \times 10^6$  UFC/ml) est inférieurs à ceux de deux fromages E1 et E2 ( $0,8 \times 10^6$  UFC/g et  $0,6 \times 10^7$  UFC/g) respectivement, à partir de ces résultats nous avons confirmés que le fromage est un produit conservé du lait.

La présence des germes recherchés à savoir *Staphylococcus aureus* ( $0,2 \times 10^6$  UFC/ml) et les coliformes totaux ( $6 \times 10^{-3}$  germe/ml) pour le lait cru, elles ont été absentes par suite, dans le fromage produit à partir du lait cru eu égard à l'acidification du fromage par les bactéries lactiques ce qui est connue comme l'effet inhibiteur vis-à-vis des microorganismes pathogènes ce qui assure la notion de la conservation du lait par la production du fromage. (**Tormo, 2010**)

Le salage a eu un effet démontré par la diminution des taux de flore lactiques des deux fromages fabriqués E1 et E2 ( $6,8 \times 10^5$  UFC/g et  $0,1 \times 10^7$  UFC/g) respectivement, en plus la conservation de fromage avait un effet présenté par l'absence totale de fromage frais à partir du lait cru et conservé à 4°C des coliformes fécaux qui ont été présents au jour de fabrication ( $2,5 \times 10^2$  germes/g)

En somme, à partir les résultats obtenues des fromages fabriqués, nous avons constatés que le fromage qui paraît de bonne qualité hygiénique c'est le fromage fabriqué à partir du lait cru E1' en raison de l'absence totale des germes pathogènes et d'altérations, voir les coliformes totaux et fécaux *Staphylococcus aureus*, les germes sulfite-réducteurs. (**Michel et al., 2003**)

En revanche, le fromage fermenté par Ln a montré une meilleure qualité organoleptique de point de vue texture et goût et même odeur, mais non hygiénique. Selon (**Devoyod et Poullain, 1988**) les leuconostocs ne croissent pas à des pH voisin de 4,8.

C'est grâce à les taux élevés d'acidité produite par lui-même ce qui a entraîné une auto destruction de ces bactéries. **(Corrieu et Luqueut, 2008)**

Prend en considération les caractères technologiques des leuconostoc, en admettons que l'utilisation des leuconostoc comme des agents acidifiantes n'a pas été suffisante en raison de la croissance des germes d'altération ( streptococcus par exemple) selon **(Devoyod et Poullain, 1988)** la production d'acide dans le lait , est favoriser par *L. lactis* qui est capable d'acidifier le lait, les autres espèces de *Leuconostoc* n'acidifient le lait que très lentement, ou en présence d'extrait de levure. C'est la raison principale pour laquelle les Leuconostocs sont toujours utilisés en levains mixtes avec des bactéries lactiques acidifiantes (streptocoques du groupe N).

Evidement, Les Leuconostocs, principalement *L. cremoris* , sont utilisés en association avec des bactéries lactiques mésophiles sont capables d'inhiber la croissance de microorganismes pathogènes tel *S. aureus* ou de bactéries psychotropes. **(Devoyod et Poullain, 1988)** cette notion explique la présence des germes d'altérations.

Mais encore il est important à mentionner que la flore totale des deux fromages E1, E2 sont particulièrement différentes de point de vue la diversité des microorganismes. En effet, le fromage frais produit à partir du lait cru a eu une flore initiale plus diversifiée voir la flore mésophile totale que le lait stérile qui a eu que les leuconostocs comme flore initiale, l'inhibition des flores recherchées est plus ou moins faible par rapport à la flore du fromage à fermentation spontanée, l'effet inhibiteur de la flore initiale du lait cru vis-à-vis des microorganismes pathogènes a également été démontré. Ces interactions font toujours l'objet d'études et mettent en relief l'intérêt de la biodiversité tout en révélant l'importance de l'équilibre des flores. L'étude des équilibres microbiens des laits crus de vache a été menée **(Tormo, 2010)**

Les résultats des analyses physico-chimiques du fromage frais pendant une semaine de conservation à 4°C avec l'évaluation de l'effet de salage exercé, nous montre une variation des valeurs de pH et d'acidité dès le 1<sup>er</sup> jour de conservation jusqu'à la première semaine reste dans la norme.

Le pH et l'acidité dépendent de la flore microbienne totale et de son activité métabolique **(Labioui, 2009)**, lorsque la bactérie lactique transforme le lactose en acide lactique qui abaisse de pH conduit à une acidité élevée **(Alais, 1984)**.

# Conclusion

Pour prolonger la durée de conservation du lait, il est transformé en d'autres produits fermentés, cette fermentation est due à l'activité des bactéries lactiques présentes dans le lait. Les produits laitiers sont très variés, consommables à cause de leur qualité hygiénique et nutritionnelle.

Ce travail a débuté par l'analyse physicochimique qui a révélé une bonne qualité avec un pH de 6,81, 6,89 du lait cru et stérile respectivement et microbiologique du lait on a constaté la présence de  $0,2 \times 10^6$  UFC/ml de *staphylococcus aureus* avec  $6 \times 10^{-2}$ , ensuite la fabrication d'un fromage frais à coagulation spontanée dont l'analyse microbiologique a montré l'absence totale de ces germes d'un côté, et d'un fromage fermenté par *leuconostoc* d'autre côté. L'effet de salage a été démontré lors de dénombrement de la flore lactiques de ces deux fromages avec des taux de  $6,8 \times 10^5$  UFC/g et  $0,1 \times 10^7$  UFC/g respectivement qui sont inférieurs à le taux de cette flore le jour de fabrication.

L'acide lactique va contribuer au caractère frais du fromage, et à la conservation de fromage frais cette notion est présentée dans la recherche des coliformes fécaux dont le taux de  $0,25 \times 10^3$  germes/g a totalement disparait suite de la conservation.

L'utilisation des *leuconostocs* qui sont des bactéries lactiques aromatisants en particulier *leuconostoc mesenteroides susp cremoris* ont un rôle majeur dans la production de l'arôme de ces fromages, c'est pourquoi on a étudié l'intérêt technologique des *leuconostocs* dans la production de fromage non affiné à fermentation dirigée prenant en considération la qualité hygiénique et organoleptique.

Les résultats obtenus vont bien avec la préservation du lait par production fromagère, non seulement dans ce contexte mais encore on a évalué les caractères organoleptiques, menées par les *leuconostocs*.

### **Perspectives :**

Sans doute, pour acquérir les critères de la qualité hygiéniques et organoleptique à la fois, il est recommandé d'utiliser d'autres substances d'affinage (notamment le romarin, l'ail) et de conservation, en raison de caractère « associatifs stricts » des *leuconostoc*, elles sont actuellement utilisés en tant qu'un levain mixte.



# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- ❖ **Afroun.S, Djahit.S.(2016).** Elaboration et validation d'un pâme expert en analyse sensoriel des fromages, 40p
- ❖ **Alais C. (1984).** Science du lait. Principes des techniques laitières. Ed. SEPAIC, 4ème édition, 814p.
- ❖ **AlaisC et Linden G.(1997).**laits et produits laitiers. Abrégé de biochimie alimentaire, 4émédition. Masson. Paris, France, 167-212 pp
- ❖ **Amiot J, Fournier S, Leboeuf Y, Paquin P et Simpson R. (2002).** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et technique d'analyse du lait. In : Lapoint-Vignola C. (Eds.), Science et Technologie du lait :Transformation du lait. Presse International Polytechnique, Québec ,1-73pp
- ❖ **Andrews W.H. (1996.).** International three validation programs for methods used in the
- ❖ **microbiological analysis of foods. Trend in Food Sci. Technol, 7-147pp**
- ❖ **Anonyme1 :** document Danone
- ❖ **Aquilanti L, Babini V, Santarelli S, Osimani A, Petruzzelli A et Clementi F. (2011).**Bacterial dynamic sinraw cow'smilk Caciotta cheese manufactured withaqueousextract of Cynaracar dunculusdried flowers. Letters in Applied Microbiology, 52p
- ❖ **Badis A, Guetrani D, Moussa-Boudjema B, Henni DE et Kihal M. (2004).** Identification and technological properties of lactic acid bacteria isolated from raw goat milk of four Algerian races. *Food Microbiol*, 21-579-588 pp
- ❖ **Badis A, Laouabdia-Sellami N, Guetarni D, Kihal M et Ouzrout R. (2005).**Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "Arabia et kabyle". *Sci et Technol*. 23, 30-37pp.
- ❖ **Baroiller, C. & Schmidt, J. L. (1990).** Contribution à l'étude de l'origine des levures du fromage de Camembert. *Lait* **70**, 67-84.
- ❖ **Bourgois C, Mesclé J.F. et Zucam.(1990).** Microbiologie Alimentation ; Aspects microbiologiques de la sécurité et de la qualité alimentaire. Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris, 422p.
- ❖ **Bourgois C et Larpent J-P.(1996).** Microbiologie alimentaire. Aliments fermentés et fermentation alimentaire, Ed Tec et Doc, Lavosier, 2émé édition, Tome 2. Paris, 553p.
- ❖ **Brisabois A, Lafarge V, Brouillard A, de BusyerML,Collecte C, Garin-BastujiBetthorel MF.(1997).** Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe .Rev SCI. Tech .Off. Int.Epiz., 16 (1), 452-471pp.

## Références bibliographiques

- ❖ **Benkheroum N, Tamime A Y. (2004).** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben, smen) to small industrial scale. *Food Microbiol* N° 21, 399–314 pp.
- ❖ **Besançon, X, Smet, C, Chabalière, C, Rivemale, M, Reverbel, J. P, Ratomahenina, R. & Galzy, P. (1992).** Study of yeast flora of Roquefort cheese. *International Journal of Food Microbiology* 17, 9-18.
- ❖ **Betrand L.(2008)**Méthodes d'analyse des aliments: le cas des analyses microbiologiques, 62p
- ❖ **Bonnyfoy C, Guillet F, Luyarl G et Bourdis E-V.2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaire. Aquitaine: Doin, Paris, 248p
- ❖ **Boussouar N.(2017)**Caractérisation technologique et sanitaire des enterocoques isolés à partir de lait de chamelle du sud-ouest Algerien,139-150pp
- ❖ **Buchin S, Beuvier E.(2000).** La spécificité des fromages au lait cru : le rôle de la microflore naturelle du lait, 2p
- ❖ **Bugaud C, Buchin S, Hauwuy A. et Coulon J. B. (2002).** 'Texture et saveur du fromage selon la nature du pâturage : Cas du fromage d' Abondance' , *Productions Animales*, 15(1),31–36pp
- ❖ **Cholet O.(2006).**Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire, 59p
- ❖ **Carole L, Vignola C.L. (2002).** Science et Technologie du lait, 598p.
- ❖ **Corrieu G, Luquet F. (2008).** Bactéries lactiques de la génétique au ferment, 153-228-431-510pp
- ❖ **Devoyod J.J et Poullain F. (1988)** Les Leuconostocs Propriétés: leur rôle en technologie Laitière, 23-25 pp
- ❖ **Diao M.(2000).** la qualité du lait et produits laitiers. Institut Sénégalais de recherches Agricoles. Edition : GRET/ ENDA-ERAF Dakar. pp. 1-7.
- ❖ **Eck A et Gillis J.C.(1997).** Les agents de transformation du lait. Le fromage .3ème ed, Tec et Doc Lavoisier. Paris, 6-189pp
- ❖ **Eck A et Gillis J.C. (2006).** Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris,347-384-691-360-24-87-213pp.
- ❖ **Edima H.C. (2007).** Carnobacterium maltaromaticum: caractéristiques physiologiques et potentialités en technologie fromagère. Thèse de Doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, 57–66pp.

## Références bibliographiques

- ❖ **Eliskases-Lechner, F. & Ginzinger, W. (1995a).** The bacterial flora of surface-ripened cheeses with special regard to coryneform. *Lait* **75**, 571-584.
- ❖ **Ercolini D, Russo F, Ferrocino I. and Villani F.( 2009 )**Molecular identification of mesophilic and psychrotrophic bacteria from raw cow's milk. *Food Microbiol.* **26**: 228–231.
- ❖ **Essalhi M.(2002)** .Relation entre les systèmes de production bovine et les caractéristiques du lait. Mémoire d'ingénieur .Institut agronomique et vétérinaire, Hassan II.Rabat, 104 p.
- ❖ **Farris M. (2009).** Connaissance des aliments. In : base alimentaire et nutritionnelle de la diététique. 2ème édition : Tec & Doc. Lavoisier. pp. 18 - 22.
- ❖ **Foulquie M, Sarantinopoulos M-R, Tsakalidou P, De Vuyst L. (2006).**The role and application of Enterococci in food and health. *International Journal of Food Microbiology*, 106-1-24pp.
- ❖ **Fleet, G. H. (1990).** Yeasts in dairy products. *Journal of AppliedBacteriology***68**, 199-211.
- ❖ **Fredot.(2009).**Connaissance des aliments-Bases aliments et nutritionnelles de la diététique. Edition : TEC et DOC, Lavoisier, Paris, France, 397p
- ❖ **Fredot E. (2005).** Connaissance des Aliments. In : Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique. Edition : Tec & Doc. Lavoisier, 38- 43-424pp.
- ❖ **Fröhlich-Wyder, M. T. (2003).** Yeast in dairy products. In *Yeasts in Food*, pp. 209-237. Edited by T. Boekhout & V. Robert. Hamburg: Behrs Verlag, Germany.
- ❖ **Gaucheron F, Graet Y-L et Schuck P.( 2004)** Equilibre minéraux et conditions physicochimique. In : Gaucheron F Minéraux et produits laitiers. Edition : TEC et DOC, Paris, 219-299 pp
- ❖ **Gelais St. D, Tirard C.P., Belonger G, Couture R. et Drapeau R, (2002).** Chapitre 6: Fromage. Pp 349 à 412. Science et Technologie du lait, transformation du lait. Coord. VIGNOLA. Edition : école polytechnique. 600 p.
- ❖ **Goudéranche H, Fauquant J, Maubois J.L. (2000).** Fractionnassions of globula rmlkfatby membrane microfiltration. *Lait*, 80-93-98 pp
- ❖ **Gilliland N, Zakin V et Weinbreg Z-G.(2005).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria included in inoculants for silage and in silage treated with these inoculants. *Journal of Applied Microbiology* **98**, 662-666.
- ❖ **Guinot-thomas P, Ammoury M. et Laurent F., (1995).** Effects of storage conditions onthe composition of raw milk. *Inter nationaldairy Journal* N°5, 211-223pp.
- ❖ **Guirraud J-P.(2003)** Microbiologie alimentaire, 135-296-155-45pp

## Références bibliographiques

- ❖ **Guiraud J et Galzy P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition : De l'Usine Nouvelle. Paris. Pp : 237.
- ❖ **Gret . (2002):**Transformation les produits laitiers frais à la ferme. 1ère Ed 2002, Educagri éditions. 232p.
- ❖ **Hallel A. (2001).** Fromages traditionnels algériens. Quel avenir? Revue Agro ligne. 14, 43-47.
- ❖ **Hamama A (1989)** Qualité bactériologique des fromages frais marocains pp :
- ❖ **Hamiroune M, Berber A, Boubekour S0( 2014).**Qualité bactériologique du lait cru de vaches locales et améliorées vendu dans les régions de Jijel et de Blida (Algérie) et impact sur la santé publique. École Nationale Supérieure Vétérinaire (ENSV) El Harrach. Alger.
- ❖ **Jacques-Antoine Hennekinne. (2009)** l'Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech), 98p
- ❖ **Jaouen CL et Mouillot M. (1985).** Fromage a partir de lait de chèvre. In : Luquet FM.(Eds), Lait et produits laitiers vache brebis chèvre. Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 295336pp
- ❖ **Jamet E. (2009).** Les bactéries lactiques : une composante de l'écosystème microbien des fromages. In : Drider DJ et Prévost H. (Eds.), Bactéries lactiques. Economica, Paris, 319-343 pp.
- ❖ **Kurrman J. A.( 1966).** L'épreuve de la réductase au bleu de méthylène, un test d'activité simple pour la préparation et l'analyse des levains de streptocoques lactiques dans la fabrication des fromages. Le Lait, INRA Editions. 46 (457), 395-405 pp
- ❖ **Labioui H, Laarousi E, Beuzakour A, El Yachiou M, Berny E, et ou Hussine M. (2009).** étude physico-chimique et microbiologique de laits crus. Bull. Lham bordeaux.2009.148, 7-16pp
- ❖ **Latham MC. (2001).** La nutrition : dans les pays en développement, Edition : FAO.520p.
- ❖ **Laurent S. (1992).**Contrôle de qualité de lait et des produits laitiers fabriqués par Soca, 32p
- ❖ **Lefrancq E, Roudaut H. (2005).**Alimentation théorique.
- ❖ **Lenoir J, Lamberet G et Schmidt J.L(1983).** L'élaboration d'un fromage : l'exemple du camembert. Pour La Science, 69-30-42 pp
- ❖ **Lenovich LM.(1987).** Survival and death of microorganisms as influenced by water activity.

## Références bibliographiques

- ❖ **Le jaouen J.C.( 1993).** Guide national de la bonne pratique en production fromagère fermière .Paris, 1è éd: Institut de l'élevage, 145-154pp.
- ❖ **Loubier P et Gruss A. (2001).** Respiration capacity of the fermenting bacterium *Lactococcus lactis* and its positive effects on growth and survival. Vol.183, 4509-4516.
- ❖ **Luquet F-M. (1986).** Laits et produits laitiers vache brebis chèvre. 2<sup>ème</sup> Edition : Tec et Doc. Lavoisier. Paris, 460p
- ❖ **Mahaut M, Jeantet R, Brule G.(2000).** Initiation à la technologie fromagère : Technique et documentation. EN6636.
- ❖ **Mathieu J. (1998) :** Initiation à la Physico-Chimie du Lait. Tec. Doc., 1ère Ed., Lavoisier, Paris, 45p
- ❖ **Mehnoune et Ferhoul. ( 2015).**Mehnoune S. Ferhoul K. 2015. Contrôle de la propreté hygiénique de lait de vache cru avec application de la préparation du fromage frais « petit suisse ». Mémoire de master. Université Khemis Miliana.
- ❖ **Menard J-L, Roussel P, Masselin- Silvin. S, Puthod R, Hetreau T, Foret A, Houssin B, Aracil. C, Le Guenic. M. (2004).** Contamination bactérienne d'une litière déstabilisations libre paillée : effet de la fréquence de paillage et proposition d'une méthode pour son évaluation. In : Rencontre sur les recherches autour des Ruminants, vol.11.Institut de l'Eleavage– INRA, Paris. Pp.333
- ❖ **Michea IM, Romain J, Gérard B.(2003).** Initiation à la technologie fromagère.(Mann,1982), 86-155pp
- ❖ **MoukaloO .(2002).** Economie du lait au Sénégal : Offre à Dakar et projection dans la demande. Thèse : Méd.vét,Dakar, 31.
- ❖ **Païrd J-C et Desmazeaud M.(1991).** Inhibiting factirs produced by lactic acid bacteria.1 Oxygen metabolites and catabolism end-products. Lait.71, 525-541pp
- ❖ **Paul R, Morgan S et Hill C. (2002).** Preservation and Fermentation: present and future. Int. J. Food. Microbiol,79-3-16pp..
- ❖ **Pebert F. (2003).**Maladies infectieuse : Toutes les pathologies des programmes officielles des études medicales ou paramédicales, 123p
- ❖ **Poffé R, Weckx M. et Simonart P. (1968).** Epreuve au bleu de méthylène et qualité bactériologique du lait. Dairy-journal, 471-4723 pp.
- ❖ **Poillot, M. (2010).**Transformer les produits laitiers frais à la ferme(deuxième édition). Educagri éditions, 160p

## Références bibliographiques

- ❖ **Poueme N-R-S. (2006).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du lait dans la filière artisanale au Sénégal. Thèse : Méd.Vét. : Dakar ; 23
- ❖ **Pillet M-R, Magras C et Federighi M. (2005).** Bactéries lactiques. In : Federighi M. (Eds.), Bactériologie alimentaire. Economica, Paris, 219-239 pp
- ❖ **Rheotest M. (2010).** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants.
- ❖ **Rhiat M ,Hicham L, Abdelhak D, Mahjoub A, Youness C, AbdelhakD, Zakaria M, Mohammed O. (2011).**Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Qualité, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Ibn Tofaïl , BP 133, 14000 Kenitra, Maroc
- ❖ **Rodrigue S, Poueme N.(2006).**Contribution à l'étude de la qualité microbiologique du lait dans la filière artisanale au Senegal , 62p
- ❖ **Sousa M-J, Malcata F-X. (2002).**Advances in the role of a plant coagulant (Cynaracardunculus) in vitro and during ripening of cheeses from several milk species. Le lait, 82p
- ❖ **Tesone S, Quevedo F. ( 1978)** Contrôle microbiologique du fromage à pate molle : « LE CUARTIROLO », 53p
- ❖ **Tolle A. (1980).** The microflora of the udder. In Factors Influencing the Bacteriological Quality of Raw Milk. International Dairy Federation Bulletin, Document. pp.120:4-10
- ❖ **Tormo A. (2010).**Diversité des flores microbiennes des laits crus de chèvre et facteurs de variabilité, 3-10-22 pp
- ❖ **Tozanli S, El Hadad Gauthier F.(2007).**Gouvernance de la chaine globale de valeur et coordination des acteurs locaux : la filière d'exportation des tomates fraîches au Maroc et en Turquie
- ❖ **Van De Guchte M, Serror P, Chervaux C Smokvina T, Ehrlich S. D et Maguin E. (2002).** Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie Van Leeuwenhoek 82, 187-216.
- ❖ **Vierling E. (2003).** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition. doinéiteurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine. N°11, 270 p.
- ❖ **Vignola C. (2002) .**Science et technologie du transformation du lait. Edition presses international polytechniques, Canada, 75p.

## Références bibliographiques

- ❖ **Vignola C-L. (2002).** Science et technologie. Transformation du lait. Paris. Ecole polytechnique de Montréal. Canada. 600 p.
- ❖ **Viljoen B-C, Khoury A-R. & Hattingh A. (2003).** Seasonal diversity of yeasts associated with white-surface mould-ripened cheeses. *Food Research International* **36**, 275-283.
- ❖ **Walther B, Schmid A, Sieber R et Wehrmuller K. (2008).** Cheese in nutrition and health. *Dairy Sci. Technol.* 88- 389–405 pp
- ❖ **Wattiaux M.A., 2003.** Lactation et récolte. Edition Babcock, 128p
- ❖ **Wessels D, Jooste P-J, Mostert J-F. (2002).** Technologically important characteristics of Enterococcus isolates from milk and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 10-349–352pp
- ❖ **ZELLER B. (2005).** Le fromage du chèvre : Spécificités technologiques et économique Thèse de Doctorat de l'Université Paul-Sabatier, Toulouse, France. **(1995).** Factors affecting herd milk composition and milk plasmin at four levels of somatic

### Textes réglementaires :

- ❖ **AFNOR, (1985).** Recueil des normes françaises. Lait et produits laitiers
- ❖ **FAO, 1995.** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine Collection FAO: Alimentation et nutrition n° 28.
- ❖ **FAO et OMS. (1996).** Lait et produits laitiers. Rome. 1<sup>ère</sup> édition. Pp. 14
- ❖ **J.O.R.A.N°35, 1998.** Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers
- ❖ **Journal officiel de la république algérienne N°70.** Méthode de préparation des échantillons pour essai et dilution en vue de l'examen microbiologique, 15 p
- ❖ **FAO: 86 AGRIS: S01**

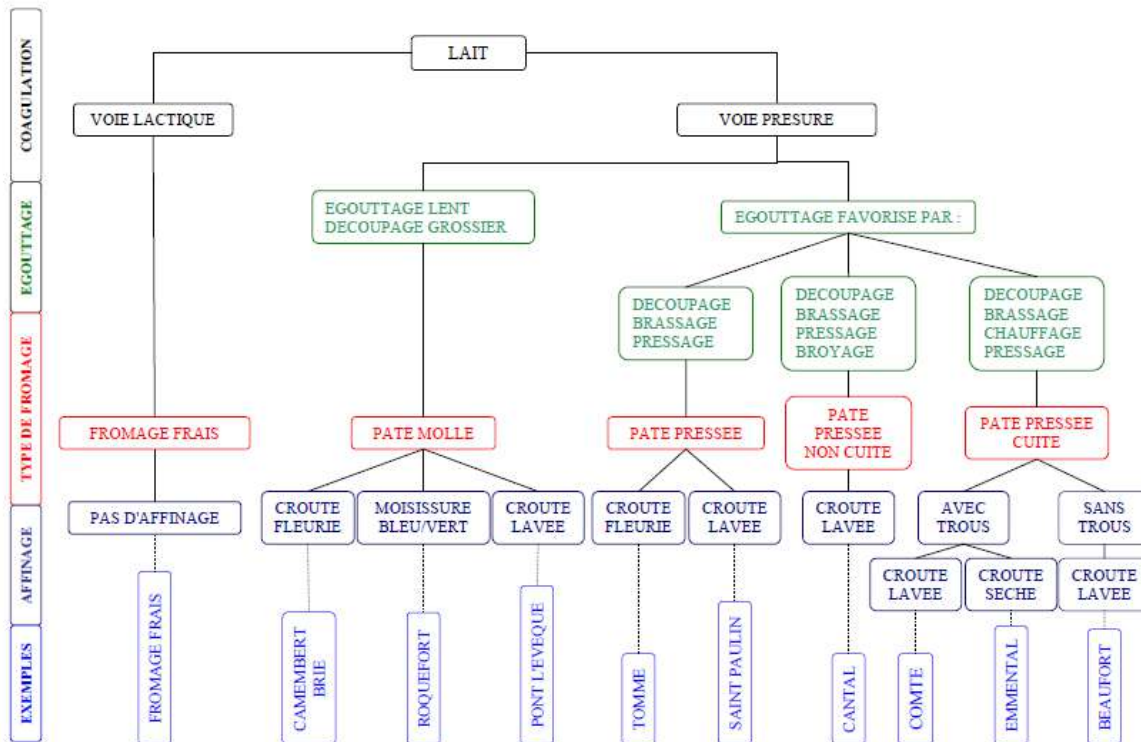
### Sites :

- ❖ **La lettre à table. 2013** <http://www.lalettreatable.org/La-tableau-de-classification-des>



# Annexes

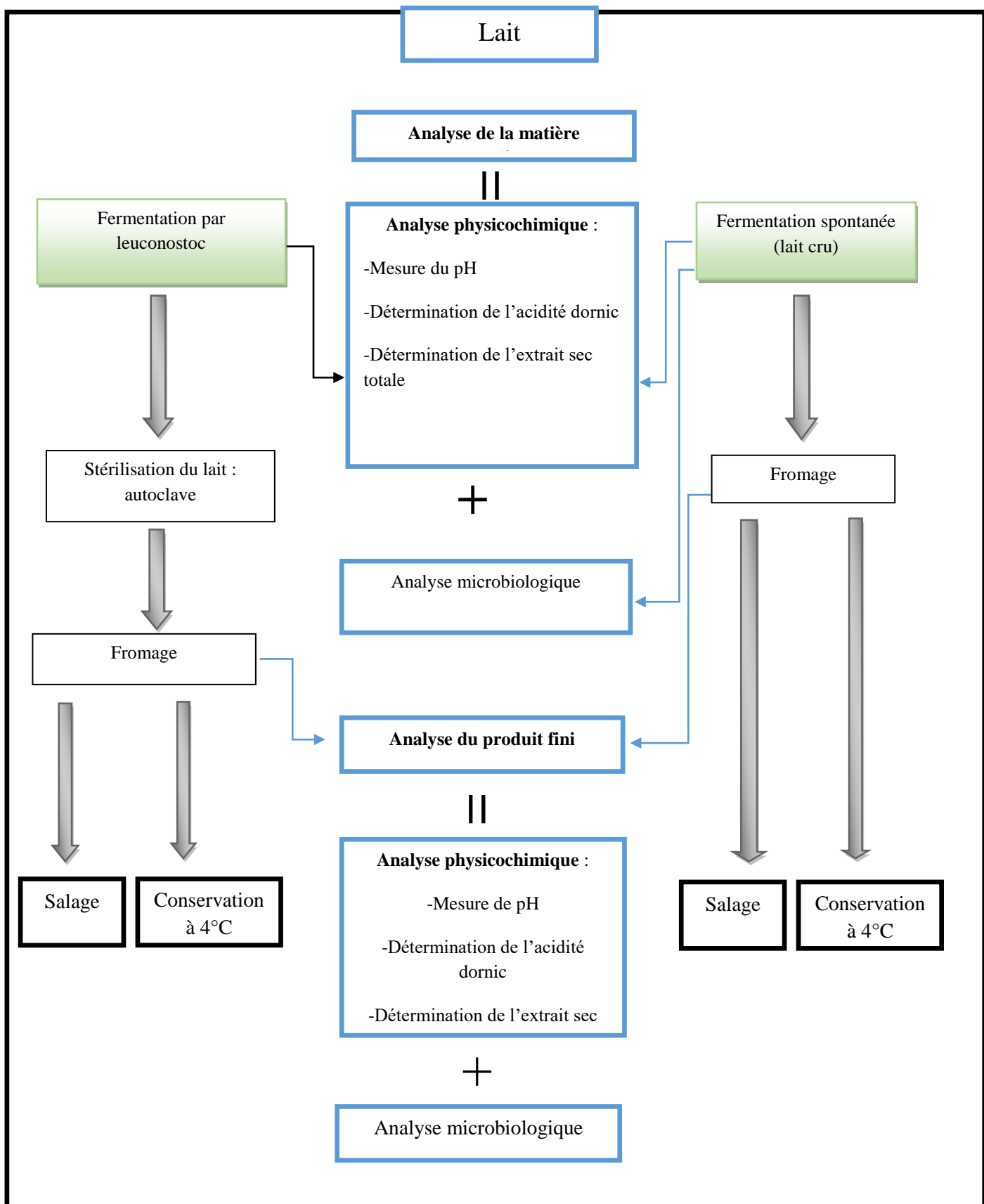
## Annexe 1 : Synthèse bibliographique



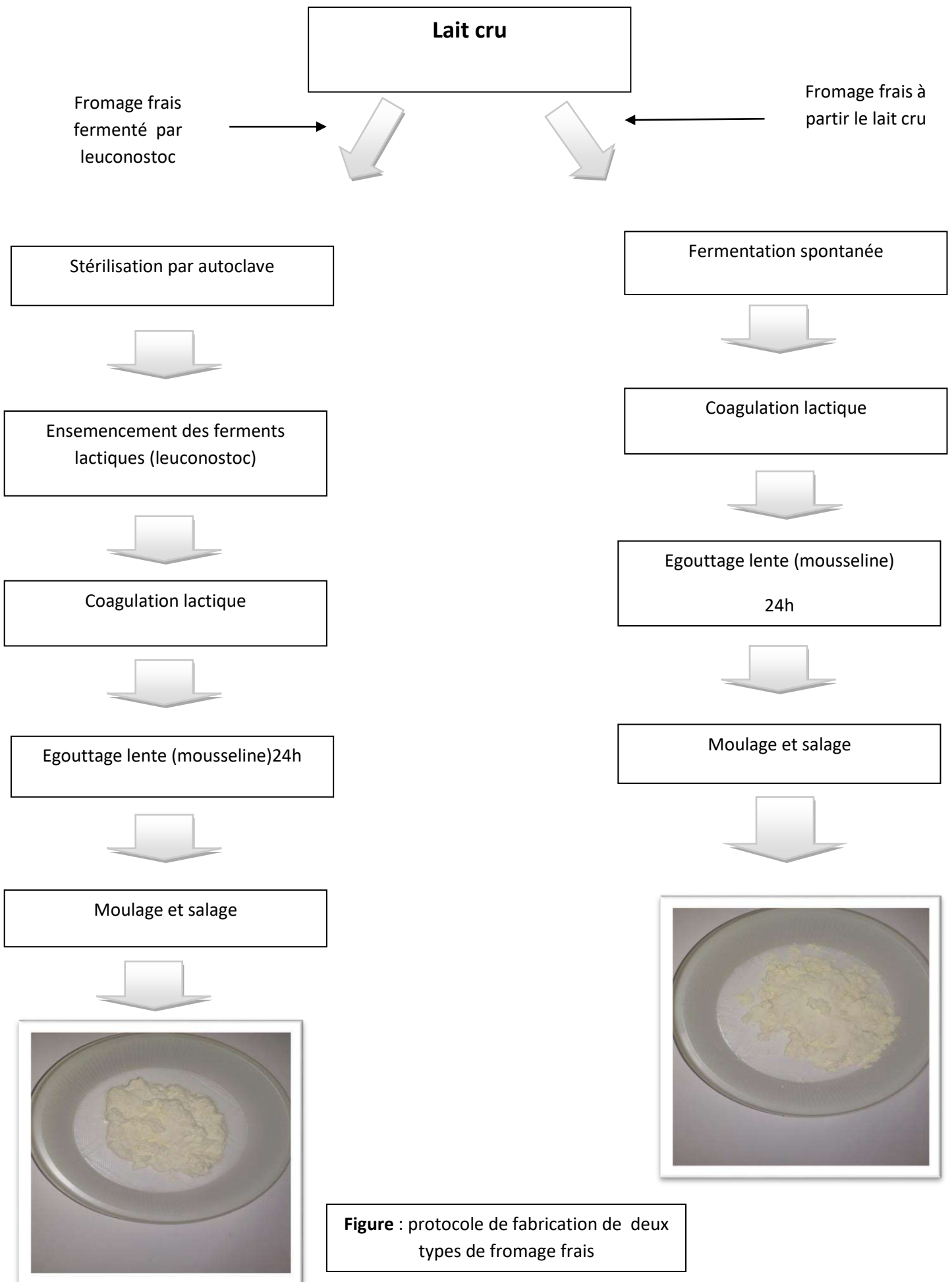
**Figure 1** : Classification des fromages selon Lenoir *et al.* (1983)

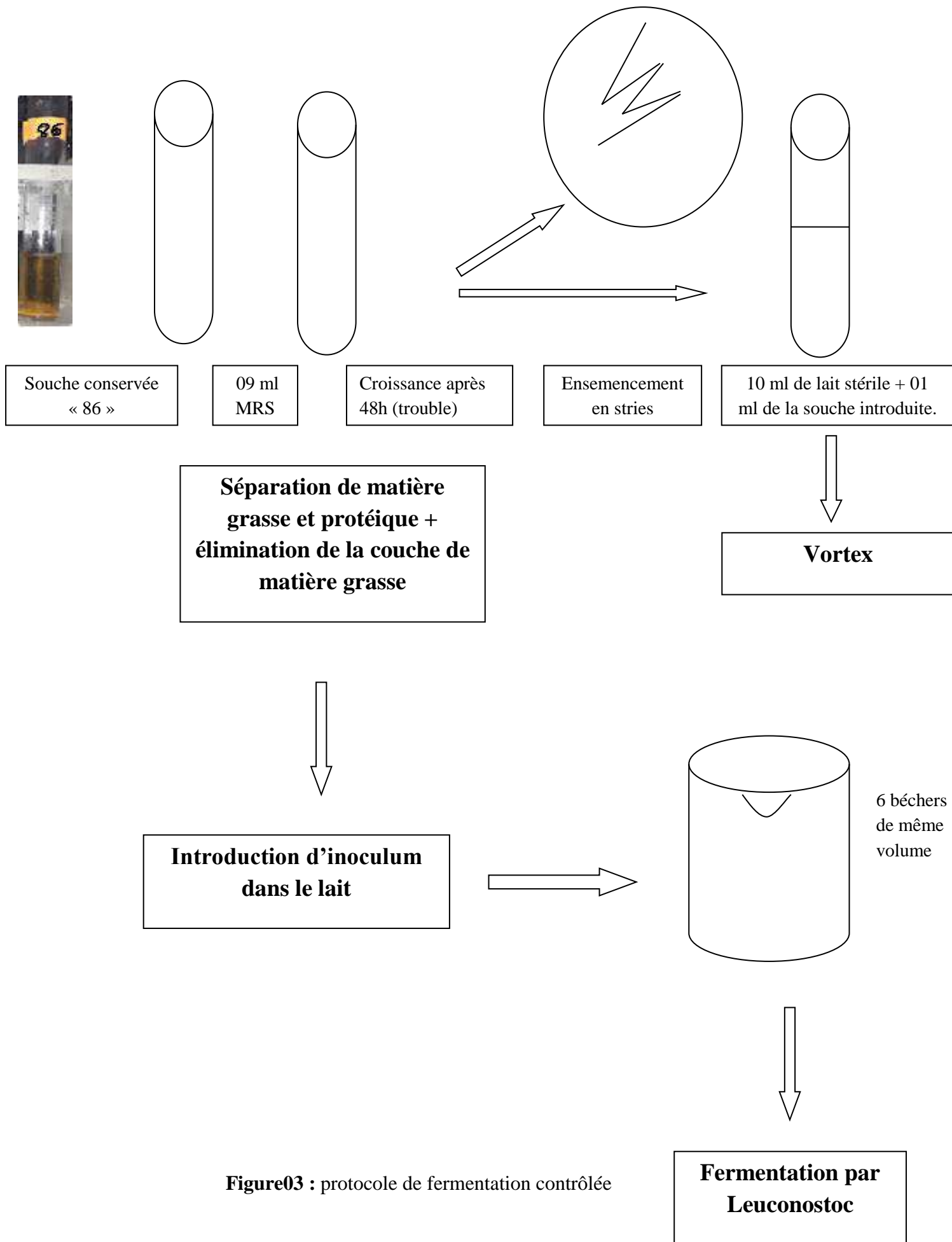
## Annexe 02 : Matériels et méthodes

Temps	Observation	Résultat
Après de 30min	Pas décoloration	
Après 1h30min	Pas décoloration	
Après 4h	Pas décoloration	



**Figure 02:** protocole des analyses du lait et du fromage frais





**Figure03** : protocole de fermentation contrôlée



Dessiccateur (matière sèche)



Test de réductase



Acidité titrable



Mesure de pH



Matière sèche (fromage)

## Composition de diluant (g/l)

### -Eau peptoné :

Peptone .....	1g
Chlorure de sodium .....	8,5g
Eau distillée .....	1000 ml

## Composition des milieux de cultures (g/l)

### I. Géloses :

#### Gélose/Bouillon MRS : (De Man-Rogosa-Sharpe, 1960)

Extrait de viande .....	10g
Extrait de levure .....	5g
Peptone .....	10g
Acétate de sodium .....	5g
Citrate de sodium.....	2g
Glucose .....	20g
MgSO4.....	25g
MnSO4 .....	0,05g
KH2PO4 .....	2g
Agar-agar .....	15 g (uniquementgélose)
Tween 80.....	1 ml
Eau distillée q.s.p.....	1000 ml

#### CHAPMAN

Peptone .....	11g
Extrait de viande .....	1g
Chlorure de sodium .....	75g
Mannitol .....	1g
Rouge de phénol.....	0,025g
Agar-Agar .....	15g
Eau distillée .....	1000 ml
pH 7.4 à 7.5	

Autoclaver à 110 °C pendant 30 mn.

#### Viande – Foie (VF)

Base VF déshydraté .....	20g
Glucose .....	2g
Amidon .....	2g
Aga-Agar .....	11g
Eau distillée.....	1000 ml
pH 7,2	

Autoclaver à 115 °C pendant 30 mn

**Sabouraud :**

Peptone de gélatine..... 10g  
Glucose .....20g  
Agar..... 17g  
Eau distillée..... 1000 ml  
pH5.6

**II. Bouillons****Milieu ROTHE (S/C) (bouillon glucose à l'azide de sodium)**

Tryptone.....20g  
Glucose .....5g  
Chlorure de sodium..... 5g  
Annexes  
Phosphate di potasique .....2.7g  
Phosphate monopotassique.....2,7g  
Azothydrate de sodium..... 0,2g  
Eau distillée .....1000 ml  
pH 7,2  
Autoclaver à 121 °C pendant 20 mn

**Milieu EVA Litsky (bouillon glucosé à l'éthyle violet et azide de sodium)**

Tryptone..... 20g  
Glucose .....5g  
Chlorure de sodium .....5g  
Phosphate di potassique .....5g  
Phosphate monopotassique..... 2,7g  
Azothydrate de sodium .....0,3g  
Eau distillée .....1000 ml  
Solution à 0,01 g d'éthyle Violet dans 100 ml d'H<sub>2</sub>O 5 ml  
pH 7,2  
Autoclaver r à 121 °C pendant 20 mn

**Milieu BCPL ( Bouillonlactosé au poupre de bromotimol)**

Extrait de viande .....01  
Peptone de caséine .....07  
Lactose .....05  
PCB %1.....0,03  
pH = 6,7±0,2



### Annexe 03 : Résultats et discussion

#### Analyse organoleptique :

Tableau : Fromage fermenté spontanément : E1

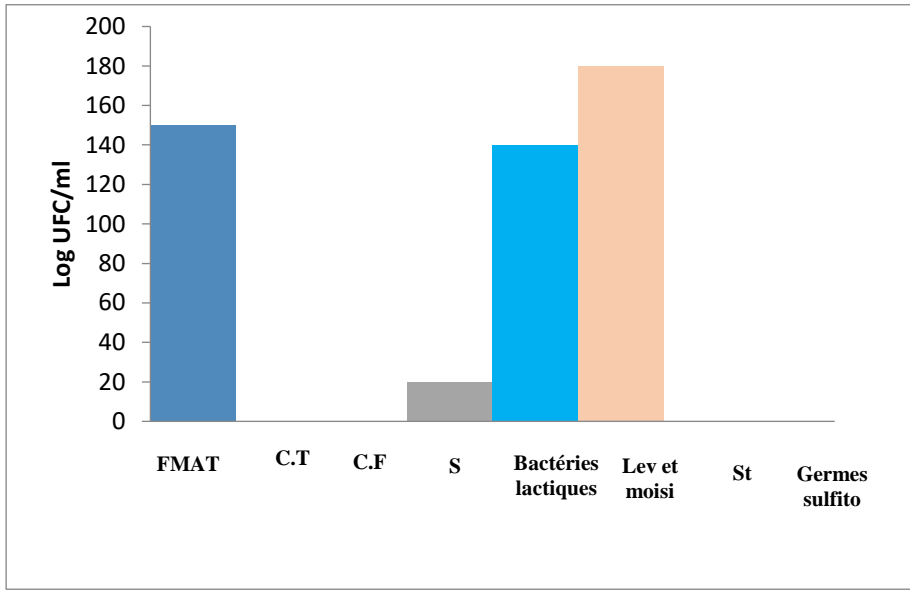
	Jour 1	Jour 7
<b>Texture</b>	ferme, granuleuse à la bouche	Très ferme
<b>Odeur</b>	Faible	Très forte
<b>Goût</b>	acide	Acide
<b>Couleur</b>	Blanche	Blanchâtre

#### Fromage fermenté par leuconostoc :

	Jour 1	Jour 7
<b>Texture</b>	molle, lisse à la bouche	Molle
<b>Odeur</b>	Forte	Forte
<b>Goût</b>	Faible	Faible
<b>Couleur</b>	Blanche	Blanchâtre

#### Analyse physicochimique du lait

Paramètre	pH	Acidité D°	EST (%)
Lait cru	6,81	17	34,44
Lait stérile	6,89	15	23,8
Normes	6,6-6,8	18	12,5-13,5



**Figure** Dénombrement des flores microbiennes du lait cru



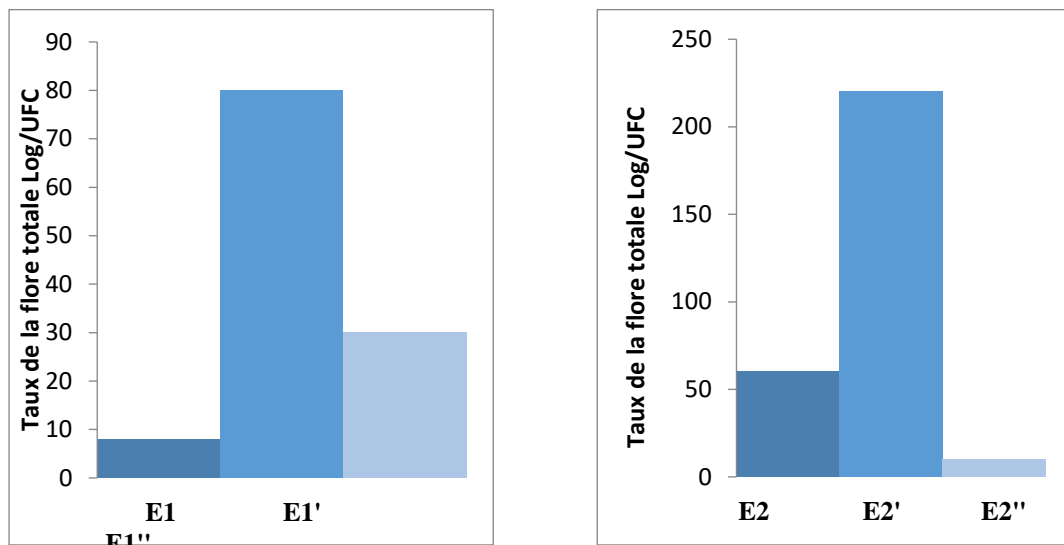
Résultat sur milieu Chapamn



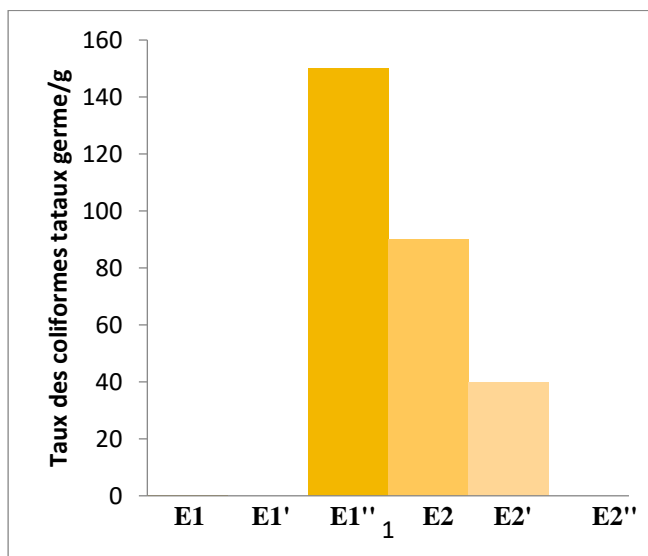
Test coagulase

**Tableau : Analyse physicochimique du fromage frais fabriqué :**

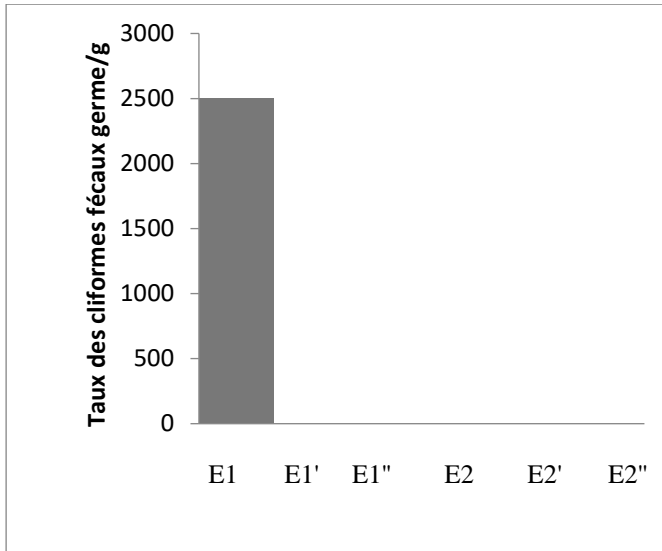
Paramètre	E1	E1'	E1''	E2	E2'	E2''	Norme
pH	4,5	4,3	4,4	4,8	4,6	4,2	4,8
Acidité D°	61,92	68,41	68,26	50,23	56,80	73,02	75-80
EST (%)	10,51	61,3	88,01	29,3	27,87	26,73	20-20,5



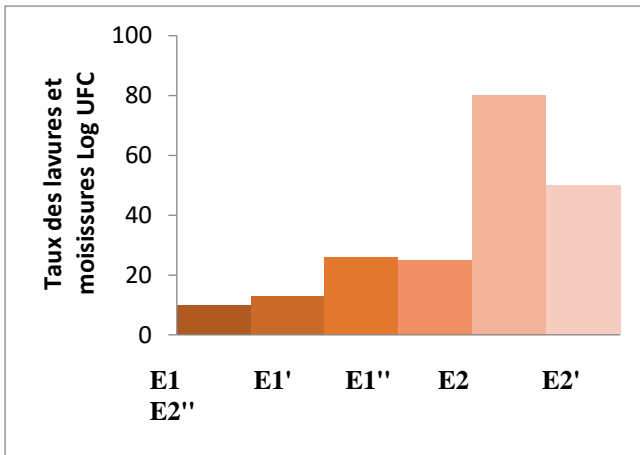
**Figure 10 : Taux de la flore totale du fromage**



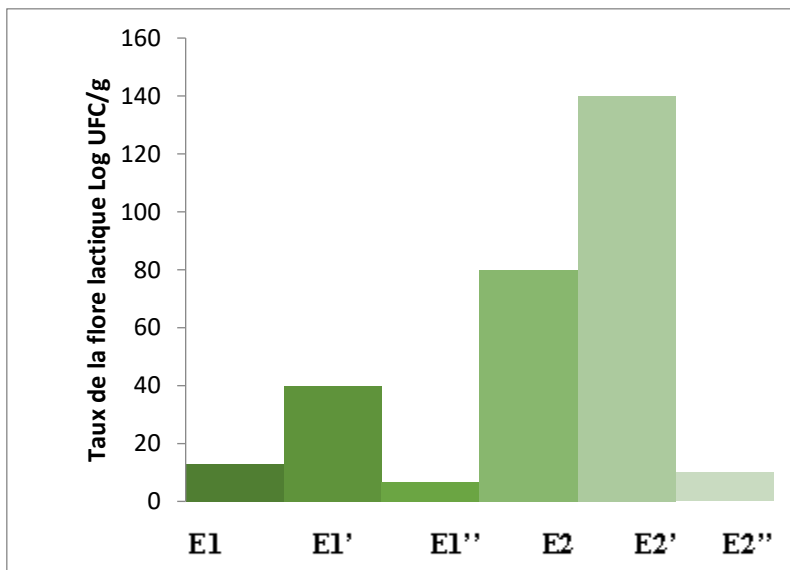
**Figure 11 : Taux des coliformes totaux dans le fromage frais**



**Figure 12 :** Taux des coliformes fécaux dans le fromage frais.



**Figure 13 :** Taux des levures et moisissures dans le fromage



**Figure14 :** Taux de la flore lactique dans le fromage frais

## Méthode de dénombrement sur milieu liquide (méthode de NPP)

Faire la lecture des tubes positifs c'est-à-dire ceux qui présentent la ou les signes de croissance (trouble) ou d'une activité biologique (dégagement du gaz dans la cloche de Durham, virage de l'indicateur coloré) et des tubes négatifs.

Reporter les résultats dans un tableau et composer le nombre caractéristique. Le nombre caractéristique est composé de 3 chiffres correspondant à 3 dilutions successives. Le premier du nombre caractéristique correspondant à la dilution la plus concentrée qui à donner un résultat positif pour tous les tubes de la série.

Elle est basée sur des données statistiques. Des tables dites de Mac Grady, donnent pour chaque nombre caractéristique le nombre le plus probable (NPP) dans 1ml de la dilution qui à servir à ensemercer les tubes correspondant au premier chiffre du nombre caractéristique.

2 tubes par dilution		3 tubes par dilution					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

**Tableau.** Normes Algériennes (J.O.R.A, 1998)

<b>Flores (UFC/g)</b>	<b>Fromage frais</b>
<b>Coliformes</b>	10
<b>Coliformes fécaux</b>	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence
<i>Listeria monocytogenes</i>	Absence
<i>Salmonella spp</i>	Absence
<b>Clostridium sulfitoréducteurs à 46°C</b>	/

**Tableau :** Norme Algérienne pour le lait cru (J.O.R.A, 1998)

<b>Flore</b>	<b>Normes (UFC/ml)</b>
<b>Germes aerobies à 30 °C</b>	10 <sup>5</sup>
<b>Coliformes fêcaux</b>	10 <sup>3</sup>
<b>Streptocoques fêcaux</b>	Absence/0,1 ml
<b>Staphylococcus aureus</b>	Absence
<b>Clostridium sulfito-rèducteur à 46°C</b>	50
<b>Antibiotique</b>	Absence



Résultat sur milieu PCA



Résultat sur milieu BCPL (coliformes totaux)



Résultat sur milieu BCPL (coliformes fécaux)

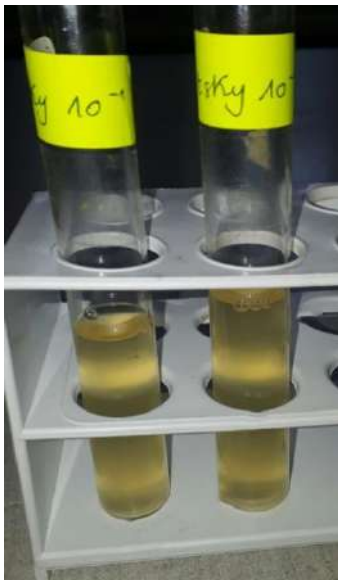


Résultat sur milieu Sabouraud ( Levures et moisissures)





Résultat sur milieu MRS (bactéries lactiques)



Résultat sur milieu Litsky (Streptocoques fécaux)



Résultat sur milieu Roth

**Annexe 04 : matériels utilisés.**



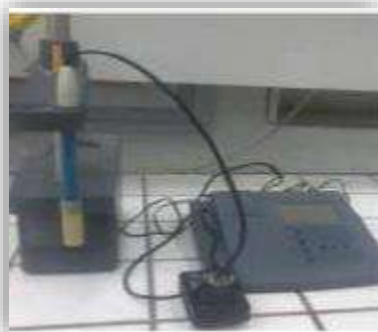
Bain Marie



Four Pasteur



Balance



pH mètre



Vortex



Plaque chauffante  
agitateur



Etuve

## Résumé :

Le fromage frais produit à partir du lait de vache est un produit d'une courte durée de vie, consommé à l'état frais. Pour cela, l'appréciation de sa qualité doit être prise en considération, notre étude consiste à essayer de produire un fromage frais à partir du lait de vache à fermentation spontanée et le comparer avec un autre fermenté par *Leuconostoc*.

Les résultats microbiologiques du lait cru montre qu'il est contaminé par *Staphylococcus aureus* d'un taux de  $0,2 \times 10^4$  UFC/ml et de  $0,6 \times 10^{-2}$  germe/ml de coliformes totaux ces germes sont absents dans le fromage, ce qui assure la notion conservatrice du lait par la production du fromage. Les résultats microbiologiques des deux fromages fabriqués, révèlent un taux de flore total de  $0,8 \times 10^6$  UFC/g et  $0,6 \times 10^7$  UFC/g respectivement, ces valeurs sont conformes à la norme du jben marocain. L'effet de salage a été démontré par le dénombrement de la flore lactique des deux fromages, où on a constaté un taux de  $6,8 \times 10^5$  UFC/g et de  $0,1 \times 10^5$  UFC/g respectivement ces taux sont inférieurs à ceux de fromage frais le jour de fabrication. Egalement dans la recherche des coliformes totaux dont le taux été de  $0,9 \times 10^2$  germe/g et deviendront absents au niveau de fromage fermenté par *Leuconostoc*. Alors que l'effet de conservation est présenté dans la recherche des coliformes fécaux dont le taux était de  $2,5 \times 10^2$  germe/g suite à une disparition totale dans le fromage fermenté spontanément. Ce dernier a montré une bonne qualité hygiénique au contraire du fromage fermenté par *Leuconostoc* qui a révélé une bonne qualité organoleptique mais non hygiénique. Cela a permet de préciser le rôle prépondérant de la microflore naturelle du lait cru sur la qualité finale de fromage. De plus, l'enjeu d'utilisation des *Leuconostoc*s dans la technologie fromagère doit tenir en compte le caractère « conjonctif stricte » de ces bactéries.

**Mots clés :** fromage frais, *Leuconostoc*, lait de vache, qualité hygiénique, qualité organoleptique